

Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY
1937
LIBRARY

RIGMOR v. MAGNUS

UNDERSØGELSER OVER EN
GRUPPE ACTINOMYCETER
ISOLEREDE
FRA MENNESKETS SVÆLG

WITH AN ENGLISH SUMMARY



LEVIN & MUNKSGAARD

EJNAR MUNKSGAARD

KØBENHAVN 1936

UNDERSØGELSER
OVER EN GRUPPE ACTINOMYCETER
ISOLEREDE FRA MENNESKETS SVÆLG



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RIGMOR v. MAGNUS

UNDERSØGELSER OVER EN
GRUPPE ACTINOMYCETER
ISOLEREDE
FRA MENNESKETS SVÆLG

WITH AN ENGLISH SUMMARY



LEVIN & MUNKSGAARD
EJNAR MUNKSGAARD
KØBENHAVN 1936

Denne Afhandling er af det lægevidenskabelige Fakultet antaget til offentligt at forsvares for den medicinske Doktorgrad.

København, den 30. Januar 1936.

P. Flemming Møller,
h. a. dec.

Printed in Denmark

—
VALD. PEDERSENS BOGTRYKKERI
KØBENHAVN

TILEGNET

MINDET OM MIN BRODER

INGENIØR CAND. POLYT. P. V. HERBST

Dette Arbejde er udført paa Statens Seruminstitut i Aarene 1927—1935.

Jeg takker Institutets Chef Dr. med. *Th. Madsen* for de glimrende Arbejdsvilkaar, hvorunder jeg har kunnet udføre mine Undersøgelser.

Afdelingsforstander Dr. med. *J. Ørskov* takker jeg for Tilskyndelse til at paabegynde Arbejdet og for den inciterende Interesse og store Hjælpsomhed, jeg altid har mødt hos ham.

Den kliniske Del af Arbejdet er udført paa Rigshospitalets otolaryngologiske Afdeling, medens jeg var ansat som Assistent der. Jeg takker Professor *A. Thornval* for Tilladelsen til at benytte Afdelingens Journaler.

P. Carl Petersens Fond, der har ydet mig værdifuld Støtte til Udførelsen af Undersøgelserne, beder jeg hermed modtage min bedste Tak.

Jeg skylder endvidere megen Tak til Afdelingsforstander Dr. med. *Martin Kristensen* for mange gode Raad og for elskværdig Gennemgang af Manuskriptet, til Professor *Søncke Knudsen*, Professor *Orla-Jensen*, Professorinde *A. D. Orla-Jensen*, Dr. med. *S. Ørskov*, Dr. med. *P. H. Andresen*, Dr. med. *V. Frie-denreich* og Dyr læge *O. Winther* for værdifuld Hjælp.

Rigmor von Magnus.

INDHOLDSFORTEGNELSE

Indledning	7
Historie	9
Materiale	13
Morphologi	16
Forekomsten af Actinomyceter af Gruppe II b i Svælg og Næse- svælg hos sunde og syge Mennesker	21
Vækst paa fast og flydende Substrat	25
I. Forgæringsrække	28
Syredannelsen i Extraktbouillon	47
II. Forgæringsrække	59
Mælk	70
Aërob og anaërob Vækst	80
Gramfarvelighed og Syrefasthed	83
Indoldannelse	87
Egenbevægelse	87
Gelatinesmeltning	88
Kapseldannelse	90
Hæmolyse	93
Serologiske Undersøgelser	97
T-Agglutination	109
Pathogenitet	113
Resumé	118
Summary	120
Litteraturfortegnelse	124

INDLEDNING

Den morphologiske Undersøgelse af de forgrenede Bakterier vanskeliggjordes tidligere meget ved Undersøgelsesmetodernes Ufuldkommenhed.

Den sædvanlige Form for Undersøgelse: Udstrygning af Bakteriekulturen paa Objektglas gav ofte misvisende Billeder, særlig naar det drejede sig om svagere forgrenede Organismer, hvis Forgreninger ved denne Behandling kunde gaa helt tabt. Iieller ikke kunde de tidligere Metoder give fuld Oplysning om Bakteriernes Livscyclus, selv om Undersøgelsen i hængende Draabe og *Hill's* Undersøgelse paa hængende Blok betegnede betydelige Fremskridt.

Først *Ørskov's* Angivelse af den direkte Agarmikroskopi skabte Muligheden for en nøjagtig og systematisk morphologisk Inddeling af de forgrenede Microorganismer. *Ørskov* deler de forgrenede Bakterier efter deres Morphologi i følgende 3 Grupper: Gruppe I bestaar af Svampe, som danner Sporer, der vokser ud til et eencellet Mycel, som ikke deler sig spontant. Fra dette Grundmycel udspringer der et Luftmycel, som deler sig ved, at Protoplasmaet falder hen i regelmæssigt store Stykker, der dernæst adskilles indbyrdes, ved at Traadmembranerne snører sig ind mellem de enkelte Elementer; til denne Gruppe foreslaar han Navnet *Cohnistreptothrix*.

Gruppe II deles i a og b. II a bestaar af Svampe, som danner et til en Begyndelse eencellet Grundmycel, som tidlig danner Lufthyfer; saavel Grundmycel som Luftmycel deler sig spontant i Segmenter. Svampene udmærker sig ved en udtalt Polymorphi.

II b adskiller sig fra II a ved ikke at danne Luftmycel, visse af disse Svampe er tilbøjelige til at slaa over i Vinkel-

vækst; den bestaar altsaa af *Svampe*, som dels kan danne et ægte *Mycel*, der senere deler sig i *Segmenter*, dels kan vokse med *Vinkelvækst*. Disse 2 Grupper sammenfattes under Navnet: *Actinomyces*.

Den III Gruppe, der foreslaas kaldt *Micromonospora*, danner et eencellet, fint forgrenet *Mycel*, paa hvis yderste Grenspidser der danner sig enkelttsiddende ovale Sporer.

Ved en Række Podninger, som *Ørskov* foretog paa Marine-soldater, gjorde han den Iagttagelse, at Svampe af Gruppe II b er hyppige Forekomster paa Luftvejene hos sunde Mennesker; han fandt dem i 9 af 100 Rhinopharynxpodninger og i 18 af 32 Tonsilpodninger.

Dette ejendommelige Forhold — hvorom der ikke tidligere findes noget angivet i Litteraturen — gav Stødet til, at jeg, paa Dr. *Ørskovs* Opfordring, paabegyndte en Række Undersøgelser over Svampene af denne Gruppe, dels for at forsøge at bestemme deres biologiske Forhold, og derigennem naa til Klarhed over, om den morfologiske Enhed dækkede over en biologisk Enhed, eller om Gruppen — som nogle faa orienterende Undersøgelser af *Ørskov* tydede paa — var en Samling af biologisk ganske uensartede Elementer, dels for ved Podninger fra syge og sunde Slimhinder at søge oplyst, om de kunde tænkes at spille en Rolle ved sygelige Tilstande i øvre Luftveje.

Hensigten med Arbejdet har saaledes været gennem en systematisk Undersøgelse at belyse en Bakteriegruppe, der ikke tidligere har været gjort til Genstand for en samlet Undersøgelse.

HISTORIE

At Actinomyceterne har eksisteret længe, viser *Moody's* Beskrivelse af en Sygdom, der tydelig var Actinomycose, i Knoglerne paa en fossil Rhinoceros. At det er et stort og udstrakt Rige, viser talrige Undersøgelser, saaledes *Waksman's* og *H. L. Jensens* Undersøgelser over Jordactinomyceter.

H. L. Jensen anfører, at *Hiltner* og *Störmer* har fundet, at Actinomyceterne ofte udgør 20—30 % af Totalantallet af Bakteriekulturer, som viser sig paa Gelatineplader tilsaaet med Jord, selv finder han Actinomycetprocenten i Totalmicrofloraen paa Plader fra Jordprøver liggende mellem 0 og 73. I stærkt sure Jordbundsprøver er der kun faa Actinomyceter, Antallet stiger ved $\text{pH} = 5$ og har Maximum ved $\text{pH} = 6,8-8$.

Beijerinck mener, at Humusdannelsen skyldes Actinomyceter.

Actinomyceter findes som saprophytiske og patogene Organismer paa forskellige Planter, Græsarter og Rodknolde, hos de forskelligste Dyr som Hund, Hest, Faar, Svin, Oxe, Elefant, Lama, Ged, Kyllinger, Østers, Mariehøns, samt i stort Antal hos Mennesket. Det er da kun naturligt, at der ogsaa findes en righoldig Litteratur over Actinomyceter og Actinomycose, og deriblandt store og glimrende gennemførte Arbejder, men karakteriseret er Actinomycetlitteraturen ved et Utal af Meddelelser om enkelte Stammer, hvis Undersøgelse endda ofte er meget lidt indgaaende, og ikke uden Grund skriver *Henrici*: one of the most remarkable facts about actinomycosis is the volume of literature, which has been written about it, and the small amount of definite information contained therein.

Forsøger man ved en Gennemgang af Litteraturen at skaffe sig et Overblik over Actinomyceternes Historie, mødes man

straks af et forbløffende Virvar indenfor Nomenclatur og Inddeling. Gang paa Gang træffer man Forslag til nye Navne og Inddelinger, og det samme Navn bruges af en Forfatter til Betegnelse af en Gruppe, af en anden til en anden Gruppe. Dette har ført til stor Forvirring paa dette Omraade og til Opstillingen af en lang Række Navne som: Streptothrix, Cladothrix, Aerothrix, Piomothrix, Cohnistreptothrix, Nocardia, Oospora, Actinomyces, Trichomyces og Discomyces.

Den første Beskrivelse af en Actinomycet foretoges i 1873 af *Cohn*, der fik tilsendt en Microorganisme, som af *Foerster* var fundet i en Taaresæk; han opfattede Forgreningerne som falske og kaldte den Streptothrix.

Dernæst følger i 1877 *Harz's* Beskrivelse af en fra Kvæg-actinomycose af *Bollinger* isoleret Straalesvamp, som han kaldte Actinomyces; *Nocard* beskriver i 1888 sin Microorganisme under Navnet Streptothrix, men 1889 foreslaar *de Toni* og *Trevisan*, at Gruppen til Ære for *Nocard* kaldes Nocardia. I 1892 anvender *Savazeau* og *Radais* Navnet Oospora, og man var nu allerede inde i den Forvirring, som senere stadig tiltog.

I 1923 publicerede *Ørskov* sine paa bred Basis foretagne Undersøgelser over Straalesvampenes Morphologi, og den dermed følgende Inddeling af disse i 3 Grupper, Cohnistreptothrix, Actinomyces og Micromonospora.

Som jeg har omtalt i Indledningen, har den Gruppe, hvis biochemiske Egenskaber jeg har søgt at belyse, ikke tidligere været gjort til Genstand for en Undersøgelse, og har derfor — som Gruppe — ingen Historie. Men spredt gennem Litteraturen finder man hist og her Meddelelser om enkelte Stammer, om hvilke man med større eller mindre Sandsynlighed kan formode, at de hører til Actinomyceterne af Gruppe II b.

Fennel beskriver saaledes 1918 en Svamp isoleret fra cariøse Tænder; den vokser med Traade og Forgreninger, Henfald i Stave og Køkker, som saa atter vokser ud til Stave; den har ingen Luftmycel, er grampositiv og ubevægelig, ikke syrefast, gror bedst ved 35°. Denne omhyggelige Beskrivelse efterlader næppe Tvivl om, at det er en Actinomycet af Gruppe II b, men ejendommeligt er, at den er udtalt microaerophil; den vokser

kun yderst sparsomt aerobt, slet ikke anaerobt, og kun nogenlunde med indskrænket Ilttilførsel. De faa Forgæringsundersøgelser, der er anført, stemmer overens med mine Undersøgelser; den forgærer Glukose, Maltose, Saccharose og Galaktose, men ikke Laktose.

Rullmann beskriver 1898 en fra sputum hos en Patient med Lungelidelse isoleret svagt forgrenet Microorganisme, der paa mange Substrater lignede Difteribaciller; den voksede aerobt og anaerobt, var grampositiv, voksede uklart i Bouillon og havde Temperaturoptimum ved 37°. Ejendommelig er den ved livlige Egenbevægelser. Af Patogenitetsforsøgene var to Tre-diede positive.

Rodella undersøger i 1901 de saakaldte syreelskende Bakterier fra Spædbørns fæces. Han finder der en Microb, der er grampositiv, uden Luftmycel, optræder meget pleomorph, dels som forgrenede Stave, dels som Kokker og tøndedeformet fortykkede Kortstave. Kolonierne er lyse, runde, lidt ophøjede og gennemsigtige. Den vokser aerobt og anaerobt, bedst ved 37°, slet ikke ved 22°. I Bouillon let Uklarhed, der senere svinder. Der kan næppe heller her være nogen Tvivl om, at det drejer sig om en Gruppe II b Repræsentant.

Jacobson, der 1908 ligeledes undersøger Spædbørns fæces, har der fundet en bac. intestinalis tuberculiformis, hvis morfologiske Beskrivelse minder om Gruppe II b, men den har kun en enkelt Forgrening. Den er næsten absolut anaerob.

Gjorgjevic har 1911 fundet Straalesvampe i Nyreabsces, Lungeabsces, Hjerneabsces efter otit. med. og Meningitispus. Alle 4 Stammer stemte overens i morfologisk, kulturel og biologisk Henseende. De var alle forgrenede, de ældre Kulturer viste korte Stave og ovale koklignende Elementer, grampositive, syre- men ikke alkoholfaste, ingen Gelatinesmeltning; de var pathogene for Marsvin og Kaniner.

Tunnicliff og *Mayer* samt *Francis Blake* har fra Tilfælde af rat-bite-fever isoleret forgrenede Microorganismer, der i Beskrivelsen meget minder om Gruppe II b, de adskiller sig dog derfra i deres Forhold over for Gramfarvningen, idet de er gramnegative.

Baron og Patay har fra Abscesser hos et Menneske dyrket en forgrenet, korttraadet, polymorph, grampositiv, ikke syrefast Microorganisme, der vokser langsomt i graa, fugtige Kolonier, saavel aerobt som anaerobt. Den forgærer Mannit, Glukose, Lævulose, Laktose, Maltose og Saccharose. Den gror bedst ved 37°, er hæmolyserende og fremkalder injiceret subcutant paa Marsvin Abscesser. Alt tyder paa, at dette er en Actinomycet af Gruppe II b.

Näslund har fra Mundhulen isoleret en Række Actinomyceter. Han henfører ikke sine Stammer til noget System, men deler dem af praktiske Grunde i aerobe, anaerobe og baade anaerobe og aerobe; der er utvivlsomt en Række Actinomyceter af Gruppe II b blandt hans Stammer, særlig synes Gruppe C at stemme overens med mine, men ogsaa i nogle af de andre Grupper er der sikkert Medlemmer af denne Gruppe til Stede. Undersøgelserne er dog ikke saa indgaaende, at man med Sikkerhed kan fastslaa dette.

Hayo Bruns dyrker 1899 en aerob Actinomycet fra Bugvægs-actinomycose hos et Menneske. Den er forgrenet, kan vokse anaerobt, men vokser bedre aerobt, Temperaturoptimum 35—38°. Den er grampositiv, ikke syrefast; den er ikke pathogen for Dyr. Kolonierne kunde som en plastisk Masse fjernes fra Agarkulturen. Det er vel ikke muligt af denne Beskrivelse at slutte ganske sikkert til hvilken Gruppe, den hører; men at en Koloni lader sig fjerne fra Agaroverfladen paa den omtalte Maade, er dog ret typisk for Gruppe II b.

Krause beskriver samme Aar en aerob Actinomycet dyrket fra human Kæbeactinomycose. Her er Oplysningerne imidlertid for sparsomme til at danne et Grundlag for en Klassification.

Det samme gælder Meddelelser af *Bergey*, hvis ene Actinomycetform dog minder om Gruppe II b, *Stoltz*, *Theodor Cohn* og *Chatterjee*.

Jeg har iøvrigt bestræbt mig for i Indledningen til hvert Kapitel at give en Oversigt over, hvad jeg i Litteraturen har kunnet finde om lignende tidligere Undersøgelser over Actinomyceter.

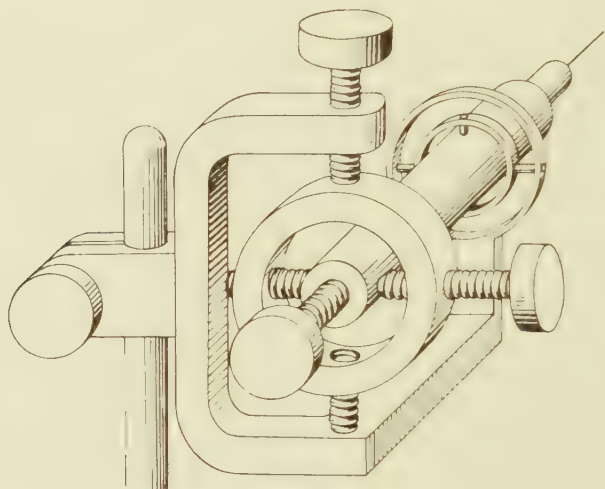
M A T E R I A L E T

Samtidig med at jeg foretog Undersøgelserne over Forekomsten af Actinomyceterne paa sunde og syge Slimhinder, var det som omtalt min Hensigt at vinde Materiale til systematisk Undersøgelse af Bakterieguppen. Det viste sig imidlertid at være en overordentlig vanskelig Sag paa denne Maade at fremskaffe Stammerne.

Teknikken, hvormed jeg oprindelig forsøgte at fange Bakteriekolonien, var Harpunering a. m. *Ørskov*. Den foregaar paa følgende Maade; Harpunen fremstilles af et almindeligt Objektiv, der forsynes med en Hætte af Plastilin og i Midten af denne fæstnes en tynd, c. 2 ctm. lang Synaalespids. Synaalespiden dyppes i Tusch, Harpunen paaskrues Mikroskopet og føres ned mod en utilsaaet Agarblok, indtil den berører denne; man drejer nu Harpunen bort og bestemmer i Mikroskopet ved Hjælp af Traadkors den nøjagtige Stilling af dette Tuschmærke; Agarblokken erstattes med den tilsaaede Blok og den Koloni, man ønsker at harpunere placeres paa Tuschmærkets Sted; Harpunen flamberes, drejes tilbage og man forsøger ved at føre Harpunen ned gennem Kolonien at fange nogle Bakterier paa denne. Harpunspidsen afvadskes derpaa med en Draabe Bouillon anbragt i Øskenen paa en Platinpodenaal, og der saaes ud i Bouillon, halvflydende Agar eller lignende.

Denne for de fleste Bakterier fortræffelige Methode er mindre godt egnet for Actinomyceter, idet den fordrer, at Bakterierne enten let følger med Harpunen, eller at de gror godt selv ved ringe Udsæd, men ingen af Delene er Tilfældet med Actinomyceterne, og Resultaterne var derfor kummerlige. Jeg gik da over til at lade konstruere en Harpun, som er afbildet Side 14. Platinspiden kan ved Hjælp af forskellige Skrue- og

Fjederanordninger udføre smaa Bevægelser i alle tre Planer, og jeg kunde nu opsøge min Koloni og direkte under Mikroskopet ved Hjælp af mit Apparat pøde fra Pladen. Det betød nogen Lettelse, men altfor ofte var Resultaterne dog negative. Platin-spidsen kunde ved en ubetydelig fejlagtig Bevægelse komme i Berøring med andre Bakteriekolonier, der da hurtigt overvoksede



Harpun.

Actinomyceterne; nogle af Actinomycetkolonierne var ogsaa for adhærente, til at de kunde fjernes paa denne Maade. Jeg gik da efter Dr. med. Ørskov's Raad over til at indsamle Stammerne fra de Kighosteplader, der indsendtes til Institutet. Paa disse havde Ørskov allerede længe bemærket Kolonierne, der frembyder en Del Lighed med Kighostebacillens Kolonier, de er lette at fjerne fra Udhostningspladerne, hvor Kolonierne staar ret spredt.

For at sikre mig, at det var de samme Kolonier, jeg fik ved Udhostning og ved Rhinopharynxpødnings, har jeg undersøgt en Række Patienter, ved dels at foretage Rhinopharynxpødnings fra dem, dels ved at lade dem hoste ud paa Kartoffelbouillon-agarplader, og mikroskopisk undersøge Pladerne. Resultatet af disse Undersøgelser, af hvilke der foretoges 65, var foruden en

Række negative Resultater baade paa Udhostnings- og Podningspladerne — og nogle positive ved den ene Metode, negative ved den anden, — at der i 7 Tilfælde fandtes Actinomyceter paa begge Plader, og at Actinomyceterne paa de samhörende var morphologisk identiske.

Jeg har derefter indsamlet langt den største Del af Materialet fra Kighosteplader, der indsendtes til Undersøgelse paa Instituttet, nogle Stammer har jeg isoleret fra Plader, som venligst blev mig overladt af Dr. med. *Bjørn Kristensen* fra hans Undersøgelser over Forekomsten af Kighostebaciller hos sunde Personer.

Paa Kighosteplader vokser Actinomyceterne udmærket og viser sig som smaa dugdraabelignende eller perlemorsskinnende, hvælvede Kolonier, der kan være ret adhærente, men i Reglen meget let lader sig fjerne.

Indvindingen foregik ganske enkelt ved, at man fra de Kolonier, der lignede Actinomyceetkolonier, podede ud paa Kartoffelbouillonagarplade og efter 1 à 2 Døgns Hæenstand ved 37° ved Agarmikroskopi afgjorde, om det drejede sig om en Actinomyceetkoloni, der saa blev saaet ud i halvflydende Agar. Saa godt som alle mine Stammer er efterhaanden indsamlede paa denne Maade, kun et Par Stykker stammer fra de først foretagne Svælgpodninger.

MORPHOLOGI

Ørskov's Inddeling af Straalesvampene i 3 morphologiske Grupper har jeg allerede omtalt; jeg skal her kun gentage Definitionen af den Gruppe, jeg har beskæftiget mig med, Gruppe II b. Den bestaar af Svampe, som dels kan danne et ægte Mycel, der senere deler sig i Segmenter, dels kan vokse med Vinkelvækst.

Den morphologiske Diagnose, særlig af de Straalesvampe der tilhører Gruppe II, som gennemløber flere morphologiske Faser, og hvis skrøbelige Forgreninger saa let sonderrives ved Berøring, hvorved Billedet helt kan forvanskes, blev først paa-lidelig, efter at *Ørskov* havde fundet sin Metode til direkte Agarmikroskopi, der muliggør Iagttagelsen af Microorganis-mens hele Livscyclus.

Morphologien har i dette Arbejde været Rettesnoren for Ud-vælgelsen af Stammerne, hvis biochemiske Reaktioner derefter er gjort til Genstand for en nærmere Undersøgelse; jeg har derimod ikke beskæftiget mig indgaaende med Morphologien, men kun foretaget en mindre Række Undersøgelser over enkelte Stammer, iagttaget ved Agarmikroskopi a. m. *Ørskov* med for-skellige Tidsintervaller, saaledes at det har været muligt at faa et Overblik over Stammernes forskellige Vækstfaser. Mikrosko-pet har været opstillet i Thermostat, Agarblokken med Kolonien udskaaret som sædvanlig, der er derefter af Plastilin blevet byg-get en Vold omkring Blokken i Højde med denne og over denne anbragtes et stort Dækglas, hvorved man undgik Indtørring af Blokken i Observationstiden.

Som omtalt danner Svampene af Gruppe II b dels ægte Mycelier, der senere deler sig i Segmenter, dels kan de vokse med Vinkelvækst.

Segmenteringen begynder i Reglen midt i Kolonien og sker ved, at der fra Traadmembranerne vokser Skilleægge ind gennem Traadene, de deles derved i ulige store Segmenter, og disse Segmenter kan igen dele sig i mindre. Paa Figur I ses en saadan

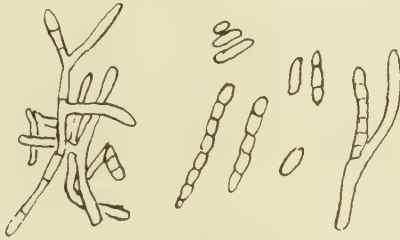


Fig. I.
Segmentering (3 Døgn).

uregelmæssig segmenteret Traad, og ved Siden af en Traad, der er delt i mange smaa, næsten kugleformede Segmenter, der dannes derved ofte Hobe af kokformede Elementer, af meget for-



Fig. II.
Spiring (ca. 5 Timer).

skellige Størrelser; paa Lejringen kan man da undertiden genkende de oprindelige Mycelier. Disse smaa kokformede Elementer begynder, naar de udsaaes paa nyt Næringssubstrat at tiltage i Størrelse og vokse ud i en eller to Spirer, i Reglen ikke flere, som udvikler sig til en Traad, der, naar den har naaet en vis Størrelse, deler sig ved et mørkt septum, hvorefter de to Stykker — undertiden ganske pludseligt — knækker sammen i en stump eller spids Vinkel med hinanden, men de forbliver i

Sammenhæng med hinanden; undertiden vokser den oprindelige Traad nu videre fra Delingsstedet, saa der derved dannes en Y-form; de kan begge igen dele sig og forskydes i Forhold til hinanden, derved fremkommer alle de Former, som *Ørskov* sammenligner med kinesiske Bogstaver (Fig. III).

Stavene danner ogsaa Sidegrene, ofte svulmer de først noget op paa det Sted, hvorfra senere Grenen udgaar, og saaledes dannes efterhaanden igen et Mycel (Fig. IV), hvorefter Kredsløbet gentager sig.

Da en og samme Kultur kan vise alle de forskellige Vækstfaser paa een Gang, baade Mycelier, uregelmæssig store Segmenter, undertiden som Kokhobe, undertiden endnu i Traadform, og slanke og opsvulmede Traade med og uden Forgreninger og med og uden Vinkelvækst, siger det sig selv, at Billedet kan blive overordentlig polymorft.

Ørskov omtaler i »Investigations into the morphology of the ray fungi« Side 103 en Svamp, som ved Isoleringen var forgrenet, men efterhaanden mistede disse Forgreninger og voksede videre med Vinkelvækst; jeg undersøgte en stor Række af mine Svampe med Hensigt herpaa et Aar efter Isoleringen, og fandt, at Alkalistammen 44, der ved Isoleringen var smukt forgrenet, nu hovedsagelig voksede med Vinkelvækst, medens tre, der ved Isoleringen var vinkelvoksende, senere viste udtalt Forgrening, det er tre Syrestammer, 41, 48 og 60. 48 viste dog allerede ved Isoleringen enkelte smaa Forgreninger, de to andre var vinkelvoksende, Stamme 41 undersøgtes særlig indgaaende ved Isoleringen, da den saa stærkt mindede om en *Difteribacil*. Karakteristisk er, at disse Stammers Vækstmodus enten er Forgrening eller Vinkelvækst; parallel eller rækkevis Lejring, som den kan ses hos andre Bakterier, træffes ikke for disse Organismers Vedkommende.

Foruden Hovedmængden i mit Materiale, der tilhører Gruppe II b, er der taget Repræsentanter med fra Nabogrupperne II a og de coryneforme Bakterier, saaledes er Stamme 11 en stærkt luftmyceldannende Svamp af Gruppe II a og Stamme 16 en typisk coryneform Bakterie uden Forgreninger, men da Grænserne til begge Sider repræsenteres af talrige Overgange, vil

det i mange Tilfælde bero paa et Skøn, om man vil regne en Svamp, fra hvis Grundmycel der hæver sig enkelte Traade i Luften til Gruppe II a eller b, ligesaavel som det siger sig selv, at det til Tider er umuligt at afgøre, om en Microorganisme er



Fig. III.

Smaamyceliale Former (kinesiske Bogstaver) (ca. 22 Timer).

en coryneform Bakterie med enkelte Forgreninger, eller om den hører til de smaamyceliale Former af Gruppe II b med Tilbøjelighed til Vinkelvækst.



Fig. IV.

Stormycelial Svamp (ca. 48 Timer).

Da jeg paa et senere Tidspunkt af Undersøgelsen maatte fremskaffe yderligere 30 Stammer, udvalgte jeg dem saaledes, at de utvivlsomt hørte til Gruppe II b, de var alle udtalt myceliale uden Luftmycel, enkelte Elementer viste Vinkelvækst, men den var som omtalt ikke dominerende. Det viste sig da, at af disse 30 Stammer hørte de 28 til samme biochemiske Gruppe (Syregruppen), de to sidste til Gruppe N¹.

Betragter man de biochemiske Grupper, i hvilke jeg efter

mine Undersøgelser har delt Actinomyceterne, hver for sig med Henblik paa Morphologi, viser det sig, at Alkaligruppen omfatter saavel stormyceliale som rent vinkelvoksende Stammer, det er den Gruppe, der har flest vinkelvoksende Stammer (31 %), heri findes bl. a. Stamme 16, der er en coryneform Bakterie. Gruppen N^{II}, hvortil Stamme 11 fra Gruppe II a slutter sig, har kun stormyceliale Stammer, N^I har stor- og smaamyceliale Stammer og en enkelt vinkelvoksende (10 %) og Syregruppen forholder sig ligesaadan, dog udgør dens vinkelvoksende Stammer kun 2 % af det samlede Antal.

Det er saaledes ikke muligt af Morphologien at slutte noget om, til hvilken biochemisk Gruppe den paagældende Stamme hører, specielt viser Alkaligruppen stor Variabilitet, men der gør sig dog visse store Retningslinier gældende i Relationen mellem Morphologi og Biologi.

FOREKOMSTEN AF ACTINOMYCETER AF GRUPPE II b I SVÆLG OG NÆSESVÆLG HOS SUNDE OG SYGE MENNESKER

Det er utvivlsomt Ørskov, der har Æren af først at have gjort opmærksom paa, at Actinomyceter af Gruppe II b er hyppige Forekomster paa sunde Slimhinder. I »*investigations into the morphology of the ray fungi*« skriver han 1923, at han ved Podninger fra sunde Mennesker fandt disse Actinomyceter i 18 af 32 Tilfælde af Tonsilpodninger og i 9 af 100 Rhinopharynxpodninger.

I 1925 har Näslund foretaget Undersøgelser over Mundhulens Actinomycetflora, og en stor Række af de fundne Microorganismer hører utvivlsomt til Gruppe II b, særlig synes efter Beskrivelsen ogsaa af visse biologiske Egenskaber hans Gruppe C at være identisk med de af mig undersøgte Actinomyceter. Undersøgelserne er dog ikke ført tilstrækkelig igennem til, at man nærmere kan identificere dem. Ogsaa Näslund mener, at disse Actinomyceter hører til den normale Mundflora, og efter hans Undersøgelser skal de være en hyppig Aarsag til Spytsten.

Men bortset fra disse to Undersøgelser findes der i Litteraturen ingen Angivelse af, at disse Actinomyceter forekommer normalt i Mundhulen.

I Arbejder som Küster's »Die Flora der normalen Mundhöhle« i Kolle og Wassermann's »Handbuch der pathogenen Microorganismen« findes der ikke beskrevet nogen Microorganisme, som kunde tænkes at henføres til Gruppe II b, heller ikke Brai-*lofsky-Lounkevitch* omtaler dem som tilhørende den normale Mundflora, men hun har hos Spædbørn tidlig fundet bact. bifid., der morfologisk slutter sig til Gruppen.

I et ældre Arbejde af *Anitschkoff-Platonoff* om Bakterieindholdet i Munden hos Syge før og efter Maaltidet findes Actinomyceeter slet ikke omtalt.

Kligler og *Goadby* har begge i større Arbejder om Mundhulens Bakteriologi isoleret samme Microorganisme; *Goadby* har givet denne Navnet streptothrix buccalis. Arbejderne har kun været mig tilgængelige i Referat, men det synes at dreje sig om en Microorganisme henhørende i Gruppe I i *Ørskov's* System.

Der findes derimod enkelte spredte Meddelelser om Actinomyceeter, der efter det foreliggende maa antages at tilhøre Gruppe II b, og som er isolerede fra Mund og Svælg, saaledes *Rullmann's* patogene streptothrix, der er ejendommelig ved livlige Egenbevægelser, *Bergey's* 4 Actinomyceeter fra Mundhulen, som han deler i to Typer, af hvilke den ene synes at være Gruppe II b, selv om Beskrivelsen ikke er udtømmende nok til at tillade en sikker Bedømmelse, *Theodor Sames'* streptothrix fra Mundslim, der beskrives som lange Traade, der er tilbøjelige til Henfald i kortere, og *Fennel's* streptothrix interproximalis, der morphologisk synes at forholde sig ganske som en Gruppe II b-Repræsentant med Traade, Forgreninger, Henfald i Stave og Kokker, som saa atter vokser ud til Stave, ingen Luftmycel. Den gror ikke ved Stuetemperatur, den adskiller sig fra mine Stammer ved at være microaërophil, vokser kun yderst besværligt aërobt, nogenlunde med indskrænket Httilførsel, slet ikke anaërobt.

Min oprindelige Plan gik ud paa ved Hjælp af en Række Podninger fra Svælg og Næsesvælg hos Personer med og uden Lidelser i øvre Luftveje dels at søge Spørgsmaalet om Hyppigheden af Bakteriernes Forekomst paa Slimhinderne opklaret, dels at faa Oplysninger om deres saprophytiske eller patogene Natur og endelig ved samme Lejlighed at indsamle Materiale til senere bakteriologiske Studier.

Fremgangsmaaden ved disse Podninger var følgende: Med steril vinkelbøjet Halspensel foretoges en Podning fra Svælg og Næsesvælg uden Berøring af Mundhule eller Tonsiller. Med denne Pensel anlagdes paa en stor Agarplade (Diameter 14 cm.)

en enkelt Tværstreg og med vinkelbøjet Pasteurpipette spredtes fra denne Streg over hele Pladen; Hensigten hermed var at opnaa saa spredt en Podning, at de smaa, meget langsomt voksende Actinomycetkolonier kunde faa en Chance for at naa en rimelig Udvikling uden at blive overvoksede af andre Bakteriekolonier; derefter henstod Pladen ved 37° i 2—4 Dage og undersøgtes nu ved Agarmikroskopi a. m. Ørskov.

Metodens Teknik er meget enkel og skal ganske kort omtales her. Med flamberet Kniv udskærer man af Agarpladen en passende stor Blok, som anbringes paa et Objektglas og betragtes under Mikroskopet først med svag Tørlinse til Orientering og foreløbig Opsøgning af Kolonierne, der dernæst undersøges med stærk Tørlinse, eventuelt med Olieimmersion efter at der er anbragt et Dækglas over Blokken. Paa denne Maade opskæres og gennemmikroskoperes Pladen meget omhyggeligt for saa vidt mulig at sikre sig, at ingen nok saa lille, ofte makroskopisk usynlig Actinomycetkoloni undgaar Opmærksomheden. At dette dog alligevel ofte har været Tilfældet, er rent umiddelbart indlysende, naar man betænker, hvor mange Muligheder, der ved en saadan besværlig Gennemgang af en stor Agarplade er for at overse en Bakteriekoloni, der i bedste Fald er knappenaalsspidsstor, men ofte kun mikroskopisk synlig. De første Podningsresultater var yderligere hæmmede, dels af min Mangel paa Øvelse, dels af at de foretoges paa et for Actinomyceterne mindre egnet Substrat — Agar — medens jeg senere gik over til den langt bedre egnede Kartoffelbouillonagar. Dette forklarer den store procentvise Forskel paa de første og sidste Resultater; i 1927 fandtes Actinomyceter i 12,3 % af Podningerne, i 1929 i 40,9 %.

Ogsaa 40,9 betegner jo imidlertid et Minimumtal, saa jeg ved disse Undersøgelser ganske kan bekræfte Ørskov's Angivelse af, at Actinomyceter af Gruppe II b er hyppige Beboere af Menneskets øvre Luftveje.

Jeg foretog ialt 304 Podninger hvoraf 71 fra Personer med sunde Slimhinder; hos disse sidste fandtes Actinomyceter i 28 % af Tilfældene. Hos Patienter med forskellige Lidelser i Ører, Næse og Hals fandtes Actinomyceterne i 39 %.

De Lidelser, det drejede sig om, var i 30 % af Tilfældene

Pharyngiter og Laryngiter, de øvrige 70 % var Rhiniter, Otiter, Tumores, Angina etc. At Pharyngiterne optræder saa hyppigt skyldes, at jeg særlig havde min Opmærksomhed henvendt paa Muligheden af, at Actinomyceterne kunde spille en Rolle ved denne Sygdom, men i det samlede Antal af Pharyngiter fandtes der kun Actinomyceter i 33 %. Forekomsten af Actinomyceterne var saaledes ikke knyttede til noget bestemt Sygdomsbillede, og de fandtes i stort Antal paa sunde Slimhinder; den Forskel, der findes i Procenttallet fra sunde og syge Slimhinder er saa lille, at man ikke tør slutte noget deraf, da den let kan bero paa Tilfældigheder, hvad man faar et tydeligt Indtryk af ved at betragte den store Forskel i Podningsresultaterne fra 1927 og 1929.

VÆKST PAA FAST OG FLYDENDE SUBSTRAT

Det Substrat, paa hvilket jeg først undersøgte mine Stammer, almindelige Agarplader, er ikke et særlig egnet Næringssubstrat for disse Bakterier.

Saar man Actinomyceter af Gruppe II b ud paa en Agarplade, er der i første Døgn oftest ingen makroskopisk synlig Vækst; dernæst begynder der at vise sig bittesmaa, farveløse eller hvide Kolonier, der ganske langsomt tiltager i Størrelse og bliver til perlemorsskinnende, hvidgraa, hvælvede, runde, halvfugtige Kolonier, som undertiden omgives af en Bræmme, men som sjælden bliver større end et Knappenaalshovede; nogle af Stammerne viser mere tørre, uregelmæssige, let knudrede, undertiden gullige Kolonier, disse er ofte adhærente til Substratet i Modsætning til Flertallets Kolonier, der er af en sejt Konsistens og ofte kan skubbes af som et Hele, men ikke adhærer videre fast til det underliggende Substrat.

Det var nødvendigt at finde et Næringssubstrat, der var bedre egnet for mine Stammer end Agar, og for at kunne benyttes til Agarmikroskopi maatte det tillige være transparent; jeg kunde derfor ikke bruge Bordet-Gengou's Kighostebacils substrat, paa hvilket jeg vidste, at Bakterierne voksede godt, men efter Forsøg med forskellige Substrater, der alle viste sig negnede, — Tilsætning af Ascitesvædske til Agar har saaledes endda en hæmmende Virkning paa Væksten — fik jeg fremstillet Kartoffelbouillonagarplader, d. v. s. Bordet-Gengou's Kighostebacils substrat i hvilket Blodet er erstattet med Bouillon; de fremstilles paa følgende Maade: 2 Dele glycerineret Kartoffel ekstrakt + 500 cm³ Kødpeptonbouillon + 2 à 2½ % Agar pH = c. 7.

Dette Substrat viste sig at være et fortræffeligt Næringssubstrat, paa hvilket Kolonierne groede langt hurtigere og naaede en betydelig større Udvikling end paa Agarplader, og det var tilstrækkelig transparent til at tillade Agarmikroskopi.

Koloniernes Udseende er iøvrigt som paa Agarplader og Kighosteplader, hvalvede, graahvide, perlemorgsglinsende Kolonier, undertiden gullige, knudrede; ældre Kolonier kan blive brunlige.

Der er i Reglen en svag klidagtig Lugt ved Kolonierne, den kan antage en skarpere Karakter; undertiden findes en aromatisk Lugt, og en enkelt Stamme Nr. 15 har bevaret en karakteristisk om Rejer mindende Lugt, der har holdt sig uforandret gennem 8 Aar, og paa hvilken denne specielle Stamme med Lethed kan skelnes fra de andre.

Paa Blodagar antager de fleste Kolonier som omtalt i Hæmolysekapitlet efterhaanden en olivengrøn Farve.

I Bouillon vokser de fleste Stammer med en ganske let Plumring og fnugget — til Tider traadet — Bundfald og undertiden Hindedannelse, men i Reglen uden denne. I *Ørskov's* Definition af Stammer af Gruppe II b findes anført som Kendemærke, at de tidlig danner Hinde ved Vækst paa flydende Substrat, men i mit Materiale har dette kun været Tilfældet for ca. en Trediedels Vedkommende; og i *H. L. Jensen's* »Contribution to our knowledge of the actinomycetes II« findes ligeledes angivet, at tidlig Overfladevækst ikke er noget konstant Fænomen hos Actinomyceterne af Gruppe II (Ørskov).

Det er meget sjældent, at man i Litteraturen finder en Angivelse af, at Actinomyceter vokser plumret i Bouillon; *Lieske* gaar endda saa vidt, at han hævder, at Straalesvampe aldrig kan fremkalde Uklarhed i flydende Substrat; findes der en saadan, maa den skyldes en Forurening.

Den Plumring, disse Straalesvampe fremkalder, naar aldrig høje Grader, og viser sig tydeligst hos de svagest forgrenede Stammer, medens den hos stærkt forgrenede kan mangle helt.

Stammerne er blevet opbevarede i halvflydende Agar¹⁾, i

¹⁾ 5: Almindelig Kødpeptonbouillon med ca. 1½ % Agar.

hvilken de vokser godt, og hvorfra de atter let kan podes om; medens dette frembød megen Vanskelighed fra det første Substrat, jeg anvendte hertil: Extraktagar.

I halvflydende Agar er den karakteristiske Vækst snefnuglignende som strøet ned gennem Substratet, men er dog for manges Vedkommende hovedsagelig Overfladevækst ofte med straaleformede Udløbere ned i Substratet.

Der er utvivlsomt en vis Overensstemmelse mellem Bakteriernes Morphologi og deres Vækstmodus paa fast og flydende Substrat, idet de stærkere forgrenede Stammer har mere Tilbøjelighed til at adhærere til Substratet og vokse klart i Bouillon end de svagere forgrenede, derimod har der ikke kunnet paa vises nogen Sammenhæng mellem Vækstmodus og andre biologiske Egenskaber som f. Eks. Forgæringsevne og serologiske Forhold.

1. FORGÆRINGSRÆKKE

Af alle de Inddelingssystemer, som har været anvendt for at skaffe Orden i det gennem Aarene voksende Virvar indenfor de forgrenede Microorganismer, har Forgæringen altid været Stedbarnet, skønt denne biokemiske Inddeling har været kendt siden 1893 (*Theobald Smith*) og har været anvendt til Klassifikation overfor de fleste Bakteriearter. Ved Gennemgang af Actinomycetlitteraturen findes Klassifikation forsøgt udfra Morfologi, Pathogenitet, Bakteriernes Evne til Granuladannelse, serologiske Forhold, Iltbehovet og andet.

Derimod har det ikke været mig muligt i mig tilgængelige Skrifter at finde et tilstrækkelig gennemført Forsøg paa forgæringsmæssig Inddeling af Actinomyceterne.

Forgæringen har lejlighedsvis været undersøgt, men kun overfor enkelte Sukkerarter og i Reglen uden Angivelse af Teknik.

Grunden hertil maa vel først og fremmest søges deri, at Bakteriernes Morfologi er saa ejendommelig og iøjnefaldende, at mange har ment, at alene Angivelsen af Forgæringen har været tilstrækkelig som Kendemærke, saa meget mere som Vanskelighederne ved at finde Bakterierne har gjort, at det som Regel kun er et enkelt eller ganske faa Exemplarer, hver enkelt Undersøgelse har drejet sig om, saa man rent umiddelbart har faaet det Indtryk, at man her maatte staa over for en enkelt — og sjælden — Familie, og ikke været klar over, hvilken Rigdom af Arter der i Virkeligheden rummes indenfor Actinomyceternes Omraade.

Først efterhaanden ved de nyere Undersøgelser er det begyndt at blive klart, at det drejer sig om talrige forskellige Arter, der er vidt udbredte saavel frit levende i Naturen som parasitært paa Planter og hos Dyr, og Forgæringerne kunde nu ven-

tes at faa en Glausperiode, men de fleste lagttagelser i den nyere Tid drejer sig om Jordactinomyceter, der ofte er ganske uden Forgæringsevne (*Waksman, H. L. Jensen*), hvilket igen har ført Undersøgelserne ind i et Dødvande.

Der er imidlertid ingen Tvivl om, at man ved Hjælp af Forgæringer dels vil kunne opnaa en Klassifikation, der ikke er uden Værdi, og dels vil kunne trænge dybere ind i mange Actinomyceters Natur og faa betydelige Bidrag til Forstaaelsen af deres Væsen og Virkemaade.

Den første Hentydning til Forgæring findes hos *Nocard*, der i 1888 i Meddelelsen om *nocardia farcinica* skriver: »elle ne parait pas modifier la réaction des bouillons neutres ou alcalins, alors même, qu'on y a ajouté du sucre«. Jeg har haft Lejlighed til at foretage en forgæringsmæssig Undersøgelse af *nocardia farcinica*, og som det fremgaar af Skema III faaet et fra *Nocards* afvigende Resultat, men Forgæringerne indtræder sent, som det ofte er Tilfældet hos Actinomyceterne, muligvis er dette Grunden til, at det er undgaaet *Nocards* Opmærksomhed.

1892 undersøger *Claudio Fermi* 38 »nye Bakteriearter«, hvoraf 4 Streptotricheer og en Actinomyces *bovis* for diastatisk Evne. Han skriver: »Die Streptothrixarten wie Actinomyces erzeugen alle mit Ausnahme von streptothrix carnea ein diastatisches Enzym«. Paa æggehvidefrit Substrat fandt han intet Spor af diastatisk Ferment.

Tunnickliff og *Mayer* har 1918 fra en Pt. med rat-bite-fever isoleret en gramnegativ, forgrenet Microorganisme, der forgærer Glukose, Raffinose, Maltose og Leontose, men ikke Salicin, Laktose, Inulin og Mannit.

Fennel har 1918 forgæret sin streptothrix interproximalis. Den forgærer følgende Sukkerarter: Glukose, Saccharose, Maltose, Galaktose, men slet ikke Laktose (undersøger i 10 Dage).

Lieske har (1921) undersøgt over 100 forskellige Straale-svampstammer bl. a. ogsaa forgæringsmæssigt, idet han benytter sig af Pladekultur.

Hans Plader til Forgæringsundersøgelser er Kødextraktpeptonagar med 0,1 % Sukkerart. Sukkerarterne har været: Stivelse, Dextrin, Inulin, Glykogen og Saccharose samt Laktose. Kun

for Stivelse er der angivet Tabeller hvoraf ses, at de 4 Stammer, som morfologisk tilhører Gruppe II b, alle forgærer Stivelse de to dog kun svagt.

Om Dextrin angives, at »de fleste forgærer den«. Inulin omtales som »en brugbar Kilde«. Glykogen: »sønderdeles af Actinomycester«. Der kunde ikke paavises Saccharoseforgæring, og næsten ingen Straalesvampe forgærede Laktose.

I 1925 skriver *Näslund* om Sukkerforgæring af Actinomycester isolerede fra Mundhulen, en Del heraf tilhører Gruppe II b, men der er inddelt efter andre Principper, saaledes at der findes Repræsentanter herfor i alle hans Grupper.

Hans Næringssubstrat er Agar med 40—60 % Spyt (steriliseret ved Opvarmning til 110° pH 7,2—7,6).

Han har kun undersøgt Forgæringen af Glukose og Stivelse; han finder for een Gruppe Forgæring af begge Sukkerarter for de to andre ubestemt for Glukose, »undertiden positiv« for Stivelse.

Stutzer og *Abramovitsch* har i 1927 isoleret 64 Actinomycesstammer, heraf 17 fra Tarmindehold, 4 fra Actinomycesis hominis, de andre fra Luft, Jord, Straa, Gødning, et Materiale af overordentlig stor Interesse. Desværre har kun et Referat været mig tilgængeligt, heraf fremgaar kun, at Glukose, Arabinose og Dextrin forgæredes hyppigst (i 49—71 %).

Endelig skriver *H. L. Jensen* i 1932 i sine Undersøgelser over Jordactinomycester, at saavel hans som *Waksman's* Undersøgelser har vist, at der kun er ringe Haab om ved Hjælp af Forgæring at faa en Artsdifferentiering. Han undersøgte derfor kun faa Stammer forgæringsmæssigt. Som Substrat anvender han *Orla-Jensen's* Caseinpepton med Stødpude.

Han benytter til Dels *Ørskov's* Inddeling og angiver her, at Svampene i Gruppe II ikke smelter Gelatine eller forgærer Stivelse i Modsætning til Gruppe I, medens de derimod kan udnytte Paraffin. Han undersøger en »proactinomyceet«, der svarer til *Ørskov's* Gruppe II b overfor følgende Sukkerarter: Glycerin, Saccharose, Stivelse, Cellulose samt Dextrin, men finder ingen Forgæring.

Det er i denne Sammenhæng ikke uden Interesse, at *H. L. Jensen* i sit i 1930 publicerede Arbejde »actinomycetes in danish soils« forsøger Inddeling af Actinomyceter ud fra forskellige biochemiske Egenskaber (Evne til Udnyttelse af Kulhydrater, Syredannelse i disse, Reduktion af Nitrater, proteolytisk Evne) men kun finder een Inddeling brugbar, nemlig den han kalder Actinomyceternes Resistens overfor Syre, som han bestemmer ved at lade Stammerne gro i en Opløsning af følgende Sammensætning: Dextrose gr. 20, NH_4Cl gr. 2, $\text{K}_2\text{H PO}_4$ gr. 0,2, MgSO_4 gr. 0,5, NaCl gr. 0,5, Aq. dest. gr. 1000. pII 6,5 i 10 cm^3 Glas i 15 Dage ved 25°, hvorefter pII bestemmes elektrometrisk.

Om denne Undersøgelse, der jo i Praksis er en kvantitativ Bestemmelse af Stammernes Dextroseforgæring skriver han: »The strains within each group seem to show far less variation in this, than in any other respect here studied«. Derimod finder han ikke, at almindelige kvalitative — der naturligvis ogsaa til en vis Grad er kvantitative — Sukkerforgæringer, bestemte ved Tilsætning af Bromthymolblaat til Næringssubstratet — der er af lignende Sammensætning som ovennævnte nemlig Kulhydrat gr. 10, NaNO_3 gr. 2, $\text{K}_2\text{H PO}_4$ gr. 1, MgSO_4 gr. 0,5, Aq. dest. gr. 1000 — er af nogen større Værdi, men at de forsaavidt har Interesse, som hans Undersøgelser viser, at der dannes Syre af Kulhydrater i Modsætning til, hvad *Waksman* mener.

For actinomyces acidophilus, en Jordbundsactinomyces, der kun kan vokse i stærkt sure Substrater, har *H. L. Jensen* fundet følgende Forgæringer: positive: Calciummalat, Glycerin, Dextrose, Saccharose, Stivelse og i nogen Grad Mannit, negative: Calciumlaktat, Inulin og Cellulose.

I »The principles of bacteriology and immunity« (1929) skriver *Topley* og *Wilson*, at aërobe Actinomyceter i Reglen ingen Sukkerforgæring har. Act. bovis Harz danmer en Undtagelse, idet den forgærer Glukose, Maltose, Laktose og Salicin inden 24 Dage. Derimod findes ingen Sukkerforgæring hos følgende: Act. madurae, act. Bostrom, act. muris-ratti Schottmüller og act. gypsoides Henrici og Gardner. For act. caprae, act. farcin og act. asteroides mangler Oplysninger om Forgæringsevne.

Egne Undersøgelser.

Da jeg begyndte mine Forgæringsundersøgelser over 100 *Actinomyces*stammer af Gruppe II b, anvendte jeg den da sædvanlig paa SerumInstitutet benyttede Teknik.

Alle Forgæringer foregaar i flydende Medium.

Det kvælstofholdige Substrat er Kødekstraktbouillon fremstillet af Liebig's Kødekstrakt 10 gr. Wittepepton 10 gr. NaCl 5 gr. i 1000 gr. Postevand. Efter Kogning tilsættes NaOH til pH ca. 7,6, derefter tilsættes Indikator: Bromthymolblaat 12 cm³ af en Opløsning 1—500. Derefter Sterilisation i Autoklave og Afkøling. Sukkerarten tilføjes ($\frac{1}{2}$ %), og naar Sukkeret er opløst — eventuelt ved Opvarmning til 40—50° — tappes det af i tørsteriliserede Reagensglas af 9—11 mm's Diameter. Til Undersøgelse for Luftudvikling anvendes Durhamglas i eet Glas for hver Sukkerartrække. Vædske­mængden i Glassene var ca. 3 cm³, Vædskehøjden ca. 3,5 ctm. Reagensglassene koches i 10 Minutter og afkøles i koldt Vand.

Sukkerarterne er følgende:

Alkoholerne: Glycerin, Erythrit, Adonit, Mannit, Sorbit, Dulcit, Laktosit.

Cycloparaffinen: Inosit.

Pentoser: Arabinose og Xylose.

Methylpentose: Rhamnose.

Monosaccharider: Glukose, Lævulose, Galaktose og Mannose.

Disaccharider: Laktose, Saccharose, Maltose.

Trisaccharider: Raffinose, Melizitose.

Polysaccharider: Dextrin, Glykogen, Stivelse.

Glykosider: Salicin, Amygdalin og Arbutin.

De fleste Sukkerarter var fra Pfanstiehl, dog var Adonit, Mannit, Glukose og Arbutin fra Merck og Glycerin fra Kahlbaum.

Svarende til hver Stamme fandtes et Kontrolglas uden Sukkerart.

Udsæden foretoges fra 3 Dage gammel Bouillonkultur, der først var undersøgt for Renhed ved Udsæd paa Plade og Mikro-

skopi a. m. *Ørskov*. Der dryppedes med Pasteurpipette ca. 2 Draaber Bouillonkultur til hvert Glas.

Stativerne hensattes i Thermostat ved 37° og tilsaas daglig i en Maaned.

Der fandt i intet Tilfælde Luftudvikling Sted.

Der frembød sig nu straks en større uforudset Vanskelighed, idet det viste sig, at ikke mindre end 66 af de undersøgte 100 Stammer dannede større eller mindre Mængde Syre i Kontrolglasset. For de flestes Vedkommende naaede Syredannelsen ikke ned under Indikatorens Omslagspunkt (d. v. s. helt gul Farve) men bevirkede kun en grøn til gulgrøn Færvning i Kontrolglasset — dog fuldstændig tilstrækkelig til at gøre Forgæringsaf-læsningerne usikre. I andre Tilfælde naaede Kontrolglasset ret hurtigt helt ned under Omslagspunktet, og viste ren gul Farve ofte før end flere af Sukkerglassene havde naaet denne pH, ja, en Del af Sukkerglassene naaede overhovedet ikke disse Surhedsgrader. Jeg skal Side 54 komme nærmere ind paa Diskussionen af disse Forhold. De tidligste »Kontrolglasforgæringer« laa omkring 9.—10. Dag, en enkelt Stamme »forgæred« endda paa 7 Dage. Denne Stammes Arabinoseforgæring indtraf først 14' Dag, Adonitforgæringen 13' Dag og Dulcitiforgæringen endda saa sent som 26' Dag. I det Hele indtraf for denne Stammes Vedkommende ikke færre end 8 Sukkerglasforgæringer senere end »Kontrolglasforgæringen«, nemlig foruden de nævnte: Erythrit, Mannit, Sorbit, Inosit og Arbutin.

Af de resterende 34 Stammer dannede 17 Alkali i Kontrolglassene, Resten forandrede ikke Kontrolglassets Reaktion.

Disse Forgæringer voldte saaledes ingen Vanskeligheder ved Af-læsningen og findes paa Skema I.

Tallene i Rubrikkerne angiver den Dag, paa hvilken Forgæringerne var fuldstændige. ÷ i Rubrikken K (Kontrolglas) angiver alkalisk Reaktion. 0: Ingen Forandring af Reaktionen. Alkalidannerne har 8 Grupper.

I med Undergrupperne a og b.

I a forgærer Monosacchariderne, Saccharose, Maltose og Glycogen. ■

I b det samme ÷ Galaktose og Mannose.

II Glukose, Lævulose, Mannose og Saccharose.

III Xylose og Monosacchariderne med Undtagelse af Mannose.

IV forgærer kun Lævulose og

V forgærer ingen af de undersøgte Sukkerarter.

Desuden findes et Par enkelte Stammer, af hvilke 16 har Tilknytning til Gruppe Ia, men mangler Laktose- og Glycogen-forgæring, til Gengæld forgærer den Glycerin og Xylose, saaledes at den kommer til at danne en Overgang mellem I og III (Gruppe VI).

Stamme 44 forgærer som I Saccharose, Maltose og Glycogen, men af Monosacchariderne forgærer den kun Mannose (Gruppe VII).

Endelig er der en alkalidannende Stamme, Stamme 69 (Gruppe VIII), der frembyder en Del Interesse, idet den forgærer alle Sukkerarter med Undtagelse af Erythrit, Mannit, Adonit, Dulcit, Arabinose, Xylose, Inulin og Amygdalin. Disse Forgæringsforhold er ret ejendommelige, idet der forgæres langt flere Sukkerarter end af nogen af de andre alkalidannende Stammer, og paa visse Punkter er Forgæringen — som jeg senere skal vise — overensstemmende med de anaërobe pathogene Actinomyceters.

De Stammer, der hverken danner Syre eller Alkali i Kontrolglasset, kan i Hovedsagen deles i to store Grupper, hvoraf den første (Gruppe I) forgærer Glycerin, Xylose, Monosacchariderne (Galaktose forgæres dog kun af 2) Saccharose, Maltose, Dextrin, Glycogen, Stivelse, Salicin og Arbutin, idet der dog er en Del smaa, individuelle Afvigelser herfra. Saaledes er der som omtalt kun 2, der forgærer Galaktose, 3 forgærer ikke Glycerin, en forgærer Mannit, en anden Laktosit og Inosit, denne er den eneste, der ikke har Xylosetforgæring, en forgærer ikke Saccharose, en ikke Dextrin og to mangler saavel Stivelse som Salicinforgæring, den ene tillige Arbutinforgæringen. En anden Stamme forgærer Salicin, men ikke Stivelse, og en forgærer Stivelse, men ikke Salicin.

Gruppe II taget som et Hele forgærer kun Xylose. I denne Gruppe afviger kun Stamme 7, der foruden Xylose forgærer Glukose, Lævulose og Glycogen, og Stamme 37, der forgærer Xylose

og Glukose. Endelig findes der en enkelt Stamme (17), der ikke kan indordnes i nogen af Grupperne, og som forgærer Mannit, Glukose, Lævulose, Galaktose, Laktose, Saccharose, Maltose, Glycogen og Salicin; og saaledes danner en Gruppe III, der dog nærmer sig Gruppe I.

De resterende 66 Stammer af de oprindelig undersøgte 100 viste som omtalt den fælles Ejendommelighed, at de fremkaldte sur Reaktion i det sukkerfri Kontrolglas. Reaktionens Styrke var forskellig.

I 21 Tilfælde var Farven ren gul ($\text{pH} \approx 6$), i de andre gulgrøn til grønlig.

Det var saaledes umuligt ved simpel Farvesammenligning at afgøre i hvilke Glas, man kunde tale om Forgæring, og i hvilke der var Tale om andre — selve Sukkernedbrydningen uvedkommende — Syredannelser.

Forgæringsglassene fra en stærkt syredannende Stamme kunde frembyde et ret ejendommeligt Syn, idet intet Glas havde beholdt sin oprindelige Farve, men kun i enkelte Tilfælde var alle 28 Glas rent gule, idet den yderligere Ejendommelighed gjorde sig gældende, at i Reglen et eller flere Sukkerglas viste svagere Farveforandring end det sukkerfri Kontrolglas.

For at forsøge at skaffe Orden i dette brogede Billede maatte jeg nu titrere Forgærings- og Kontrolglas. Titreringen foregik 14 Dage efter, at det egentlige Forsøg var endt. Jeg gik frem paa følgende Maade:

Fra en Microburette tildryppedes $1/10$ n. NaOH først til den paagældende Stammes Kontrolglas, indtil den oprindelige Farve var naaet, idet et utilsaaet Kontrolglas tjente til Sammenligning. Det samme Kvantum $1/10$ n. NaOH blev nu dryppet til hvert enkelt Forgæringsglas. En Del antog herved atter den oprindelige Farve (i disse Rubrikker er intet noteret). De, der endnu ikke havde naaet den oprindelige pH, blev nu yderligere titrerede, til Farven var naaet. Resultaterne ses paa Skema II og III.

2 Stammer maa udgaa af Forsøget nemlig Nr. 2, der er gaaet tabt før Titreringen, og Nr. 43, til hvilken der ved et Uheld under Titreringen blev tilsat for meget NaOH.

Tallet udfor Rubrikken K (Kontrolglas) angiver det Antal

cm³ 1.10 n NaOH, der har maattet tildryppes Kontrolglasset for at naa den oprindelige pH (kolorimetrisk bestemt). Tallene i de andre Rubrikker angiver hvor meget NaOH, der yderligere har maattet tilsættes disse Glas for at naa den oprindelige Farve. Hvor intet Tal er opgivet, var Reaktionen efter Tildrypning af Kontrolglassets Titertal den oprindelige eller — i sjældne Tilfælde — alkalisk. To af Stammerne — Nr. 3 og Nr. 41 — er ikke titrerede, fordi deres Kontrolglas, efter først at have vist Syredannelse, svingede om igen til neutral Reaktion; en anden Stamme, der havde primær Syredannelse med paafølgende Omslag til Alkalidannelse, er regnet med blandt Alkalidannere. Tallene i Rubrikkerne angiver her, paa hvilken Dag Farveomslaget til gult fandt Sted. Nogle enkelte Steder er Tallet i Rubrikken erstattet af et +, i disse Tilfælde har Glasset efter Tildrypning af Kontrolglassets Titertal endnu vist sur Reaktion, men Titring er ved et Uheld ikke blevet gennemført. r. udfor Arbutin betyder, at i denne Sukkerart dannedes der ved Forgæringen en rødbrun Farve, der ikke forandrede ved Alkalitildrypning. Jeg skal her bemærke, at jeg har haft Opmærksomheden henvendt paa Muligheden af, at »Syredannelsen« skyldtes en Nedbrydning af Indikatoren, men ved Tildrypning af frisk Indikator antog denne straks samme Farve.

Ved at betragte Skemaet over disse 64 Stammer ses det, at Forgæingerne er ret ensartede. Glycerin forgæres af de fleste, nemlig af 56 Stammer, Erythrit, Adonit og Dulcit forgæres ikke. Mannit forgæres af 2 Stammer og Sorbit af een; Laktosit og Inosit derimod af de fleste, nemlig henholdsvis 41 og 54.

Af Pentoserne forgæres Xylose af 61, Arabinose af 45.

Rhamnose forgæres kun af faa, nemlig af 12, og de otte af disse Forgæinger er meget svage; manglende Rhamnoseforgæring er saaledes det typiske for disse Actinomyceeter.

Monosacchariderne forgæres derimod af saa godt som alle Stammer; nemlig Glukose af 63, Lævulose af 62, Galaktose af 62, og Mannose af 63, og den overvejende Del er kraftige Forgæinger.

Det samme gælder for Disacchariderne, af hvilke Laktose er svagest med 52 Forgæinger, Saccharose 63, Maltose 64.

Af Trisacchariderne forgæres Raffinose af 57, Melizitose af 54 Stammer.

Dextrin forgæres af 63, Glykogen af 61, Inulin af 50 (gennemgaaende kraftige Forgæringer) og Stivelse af 62 Stammer.

Glykosiderne forgæres noget svagere, Salicin af 48, Amygdalin af 25 og Arbutin viser i alle Glas den omtalte rødbrune Farve.

Efter de omtalte Forskelligheder er der forsøgt en Gruppeinddeling, men de indbyrdes Afvigelser er som omtalt ikke store, og det er værd at lægge Mærke til, at hvis en Sukkerart ikke kan forgæres af en Række Stammer, men vel af andre, saa er disse sidste Forgæringer ofte svage, med andre Ord, Forskellen er næppe en Artsforskel, men kun en Gradsforskel. Dette ses særlig tydeligt som omtalt for Rhamnose, ligeledes for Amygdalin, mindre udtalt for Arabinose, Laktosit og Laktose samt Salicin; medens Inulinforgæringerne gennemgaaende er ret kraftige, skønt 14 Stammer viser manglende Forgæring, her kunde være Mulighed for en Artsforskel, men dels er disse 14 ikke i andre Henseender med Hensyn til Forgæringer helt overensstemmende, dels er det heller ikke ved andre Undersøgelser lykkedes at paavise nogen særlig Sammenhæng mellem dem.

Man kan altsaa i Hovedsagen betragte disse Stammer som hørende til een Forgæringsgruppe, hvor der dog forekommer en Del smaa Afvigelser, som muliggør Opstillingen af nogle Undergrupper.

Jeg har i alt kunnet inddele dem i 13 Undergrupper.

I: forgærer alle Sukkerarter med Undtagelse af Alkoholerne Erythrit, Adonit, Mannit, Dulcit og Sorbit.

II: det samme ÷ Laktosit.

III: forgærer gennemgaaende som I, men hver Stamme mangler Forgæring af en eller to af de Sukkerarter, Gruppe I tager.

IV: som I ÷ Rhamnose.

V: som II ÷ Rhamnose.

VI: som III ÷ Arabinose.

VII: er en stor, men ikke helt homogen Gruppe, der forgærer som II, men mangler Amygdalin og for nogle Stammer tillige Arabinose.

VIII: minder om VII, men mangler Inulin, Salicin og til Dels Melizitose.

IX: som VIII, men har Amygdalin- og Salicinforgæring.

X: forgærer ikke Glycogen og Amygdalin, der mangler desuden for hver Stamme nogle Forgæring.

XI: er ogsaa noget uensartet, men karakteriseres især ved den manglende Raffinose-, Inulin- og Salicinforgæring.

XII: er karakteriseret ved manglende Laktoseforgæring.

XIII: har 2 Stammer, der begge forgærer 10 Sukkerarter, men ikke de samme og spredt lidt tilfældigt over det sædvanlige Forgæringsfelt.

Langt den største Del af disse Actinomyceeter — 66 af 100 — tilhører altsaa forgæringsmæssigt den samme Hovedgruppe, som kan deles i nogle Undergrupper, der dog ikke er skarpt afgrænsede.

Som omtalt Side 34 viste af de alkalidannende Stammer en enkelt nogen Lighed med de syredannende Stammers Forgæring, nemlig Stamme 69. Denne Stamme er ret ejendommelig, idet den dels forgærer en stor Række Sukkerarter, dels ogsaa paa visse Punkter minder om de anaërobe menneskepathogene Actinomyceeters Forgæringssskema, som det venligst er mig overladt af Dr. *P. Holm*, der har foretaget en Række Undersøgelser herover med en Teknik, der nærmer sig den af mig anvendte saa stærkt, at man kan sammenligne de to Rækker.

Tager man de syredannende aërobe Actinomyceeters Forgæring som et Hele, vil Skemaerne se saaledes ud:

Sukkerarter	aërobe Syredannere	anaërobe	69	noc. farcin
Glycerin	+(56)	0	+	0
Erythrit	0	0	0	0
Adonit	0	0	0	0
Mannit	0 (62)	+(sent)	0	+
Dulcit	0	0	0	0
Sorbit	0	+(sent) el. 0	+	0
Inosit	+(54)	+	+	0
Arabinose	+(45)	+ el. 0	0	0
Xylose	+(61)	+	0	0

Sukkerarter	aërobe Syredannere	anaërobe	69	Noc. tarcin.
Rhamnose	0 (52)	+	+	+
Monosaccharider ...	+(ca. 63)	+	+	+
Disaccharider	+(63 Lakt. 52)	+	+	+
Trisaccharider	+	+	+	+
Dextrin	+(56)	+	+	+
Glycogen	+(61)	+	+	+
Inulin	+(50)	0	0	0
Stivelse	+(62)	+	+	+
Glycosider	+(25 og 48)	+	+	+

Tallene ved Siden af de aërobe angiver Antallet af Stammer, der forgærer som angivet. Hovedforskellen ligger i Forgæringen af Glycerin, Mannit, Sorbit, Rhamnose og Inulin. Saavel for aërobe som for anaërobe er der en Del Afvigelser, men det er værd at lægge Mærke til, at for de aërobe indtræffer der f. Eks. intet Tilfælde, hvor Inulinforgæringen er negativ samtidig med at Rhamnoseforgæringen er positiv.

I store Træk findes der en tydelig Forskel i Forgæringen, og særlig tror jeg, der kan lægges Vægt paa Rhamnose- og Inulinforgæringen sammenholdt.

Som det fremgaar af Skemaet indtager Stamme 69 en Middelstilling, der dog nærmer sig de anaërobes mest; og med Hensyn til Rhamnose- og Inulinforgæringen falder sammen hermed.

Et lignende Forhold har jeg fundet for *Nocardia farcinica*, hvis Skema ses anført Side 44—45, og som ogsaa har positiv Rhamnoseforgæring sammen med negativ Inulinforgæring.

I sidste Gruppe, hvor ingen Kontrolglasforgæring har fundet Sted, er der som omtalt i store Træk to Grupper, en, der forgærer indtil 12 Sukkerarter og en, der hovedsagelig kun forgærer Xylose; endvidere Stamme 17 med en noget afvigende Forgæring.

Alene den syredannende Gruppens store talmæssige Overlegenhed placerer denne som den vigtigste og mest stationære af Mundhulens aërobe *Actinomycetflora*.

I de to andre Hovedgrupper findes Stammer, der i deres For-

	Glycerin	Erythrit	Adonit	Mannit	Dulcit	Sorbit	Laktosit	Inosit	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Glucose	Lævulose	Galaktose
99												+2	+ $\frac{1}{2}$	+3
33												+2	+2	+3
58					+9							+1	+1	+2
34												+8	+25	
77												+15	+2	
62												+4	+4	
18												+9	+9	
20												+5	+5	
12										+19		+10	+1	+1
13										+10		+2	+6	+5
31													+9	
86													+20	
14														
66														
16	+7									+20		+2	+4	+3
44														
69	+12					+4	+17	+3			+20	+1	+1	+15
21										+18		+5	+2	+2
36										+9		+7	+3	+9
29	+12									+30		+2	+3	
50	+9									+25		+3	+4	
67	+23									+24		+1	+1	
49	+11						+7	+7				+3	+2	
8	+16									+25		+4	+5	
78					+14					+9		+8	+7	
17				+10								+3	+3	+4
7										+14		+8	+14	
11										+6				
15										+9				
27										+21				
82										+19				
92										+27				
6										+12				
37										+21		+25		

	Glycerin	Erythrit	Adonit	Mannit	Dulcit	Sorbit	Lactosit	Inosit	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Glukose	Lävulose	Galaktose
5	0,3						0,28	0,28	0,37	+	0,23	+	0,27	0,34
40	0,24						0,23	0,17	0,32	+	0,81	0,58	+	0,44
63	0,25							0,23	0,13	0,29	0,10	0,25	0,35	0,27
68	0,21							0,24	0,13	0,4 i	0,14	0,43	0,33	0,27
90	0,11					0,2	0,14		0,05	0,15	0,1	0,50	0,18	0,19
81	0,21						0,13	0,27	0,21	0,4	0,09	0,27	0,34	0,28
91	0,29							0,38	0,16	0,28	0,16	0,43	0,40	0,32
65	0,18						0,1	0,18	0,13	0,29	0,1	0,22	0,2	0,18
85								0,16	0,18	0,25	0,04	0,20	0,20	0,12
56	0,21						0,22	0,21	0,09	0,34		0,52	0,31	0,30
26	0,31						0,04	0,18	0,14	0,26		0,45	0,28	0,24
30	0,27						0,21	0,44	0,27	+		+	0,28	0,42
39	0,23						0,23	0,19	0,16	+		0,43	0,3	0,26
52	0,27						0,24	0,29	0,1	+		0,69	0,50	0,63
60	0,26						0,24	0,22	0,12	0,43		0,35	0,32	0,33
100	0,16						0,13	0,17	0,10	0,21		0,37	0,23	0,20
61	0,25						0,34	0,38	0,12	0,25		0,14	0,34	0,20
72	0,08						0,04	0,22	0,21	0,48		0,33	0,29	0,30
19	0,30							0,3	0,18	1,9		0,5	0,38	0,19
93	0,08							0,28	0,27	+		0,39	0,30	0,21
48	0,17						0,17	0,15		0,39		0,15	0,42	0,24
54	0,31						0,17	0,71		0,41		0,41	0,37	0,17
57	0,26						0,21	0,1		0,13		0,42	0,33	0,26
59	0,3						0,3	0,2	0,08	0,19	0,23	0,31	0,26	0,43
97	0,09						0,05	0,50	0,12	0,10		0,25	0,24	0,17
76	0,16						0,22	0,17	0,04	+		0,48	0,41	0,31
94	0,18						0,20	0,30	0,18	0,44		0,27	0,40	0,22
95	0,16						0,30	0,23	0,10	0,32		0,20	0,15	0,18
4	0,17						0,26	0,62	0,32	0,40		0,38	0,41	0,20
23	0,09						0,19	0,27		0,42		0,50	0,38	0,26
53	0,18						0,20	0,27		0,24		0,31	0,41	0,13
83	0,10						0,27	0,22		0,26		0,38	0,26	0,30
46	0,3							0,33		0,83		0,30	0,49	0,19
84							0,12		0,16	+		0,18	0,12	0,18
3	10+									11+		2+	2+	4+
47	0,12						0,21	0,25	0,16	+		0,23	0,30	0,37
96	0,21							0,35	0,14	0,21		0,28	0,25	0,26
41	7						5	4		12+		2+	2+	4+
10									0,4	+		0,33	0,19	0,25

II.

Mannose	Laktose	Saccharose	Maltose	Raffinose	Melzitose	Dextrin	Glycogen	Inulin	Stigelse	Salicin	Amygdalin	Arbutin	K.	
0,29	0,35	0,22	0,35	0,35	0,29	0,2	0,41	0,40	0,25	0,44	0,22	r	0,21	I
0,19	0,18	0,44	0,16	+	0,26	0,46	0,24	0,46	0,34	0,31	0,13	r	0,13	
0,28	0,3	0,39	0,40	0,30	0,38	0,29	0,46	0,45	0,22	0,24	0,10	r	0,20	II
0,33	0,08	0,32	0,29	0,39	0,24	0,4	0,37	0,4	0,28	0,4	+	r	0,17	
0,28	0,18	0,17	0,2	0,26	0,13	0,14	0,2	0,18	0,18	0,14		r	0,2	III
0,26	0,18	0,32	0,2	0,08		0,1	0,04	0,3	0,33	0,13	0,14	r	0,12	
0,33	0,16	0,40	0,39	0,40		0,15	0,33	0,43	0,29	0,33	0,12	r	0,17	
0,4	0,14	0,2	0,36	0,24	0,32	0,3	0,18	0,37	0,2		0,11	r	0,3	
0,21	0,08	0,33	0,10	0,20	0,20	0,18	0,21	0,08	0,17	0,04		r	0,25	IV
0,34	0,31	0,40	0,31	0,38	0,26	0,31	0,32	0,32	0,32	0,18	0,1	r	0,18	
0,32	0,28	0,38	0,35	0,40	0,38	0,33	0,30	0,30	0,34	0,35	0,14	r	0,14	
0,42	0,30	0,24	0,32	0,41	0,30	0,31	0,42	0,13	0,18	0,14	+	r	0,21	
0,26	0,22	0,31	0,27	0,45	0,26	0,19	0,33	0,33	0,17	0,11	0,09	r	0,17	
0,55	0,45	0,68	0,53	0,57	0,09	0,46	0,40	0,43	0,36	0,10	0,35	r	0,12	
0,20	0,28	0,47	0,42	0,33	0,37	0,43	0,65	0,44	0,38	0,30	0,20	r	0,21	
0,17	0,10	0,27	0,17	0,26	0,18	0,27	0,25	0,44	0,40	0,27	0,30	r	0,14	V
0,30	0,25	0,38	0,33	0,34	0,24	0,40	0,36	0,33	0,31	0,40	0,14	r	0,25	
0,40	0,18	0,30	0,20	0,40	0,30	0,32	0,21	0,38	0,36	0,21	0,12	r	0,12	
0,40	0,28	0,42	0,27	0,30	0,37	0,34	0,34	0,64	0,34	0,71	0,35	r	0,22	
0,23	0,16	0,40	0,30	0,29	0,37	0,30	0,26	0,57	0,27	0,15	0,08	r	0,17	VI
0,25	0,22	0,39	0,21	0,28	0,15	0,27	0,28	0,32	0,21	0,30	0,27	r	0,25	
0,40	0,21	0,46	0,40	0,48	0,30	0,19	0,44	0,44	0,28	0,39	0,21	r	0,27	
0,31	0,18	0,31	0,19	0,39	0,35	0,31	0,45	0,36	0,29	0,31	0,21	r	0,29	VII
0,33	0,30	0,26	0,22	0,28	0,33	0,23	0,38	0,30	0,19	0,40		r	0,26	
0,23	0,19	0,19	0,24	0,21	0,22	0,25	0,16	0,13	0,17	0,25		r	0,25	
0,36	0,36	0,30	0,34	0,21	0,26	0,21	0,26	0,38	0,30	0,20		r	0,14	
0,36	0,20	0,37	0,22	0,35	0,38	0,27	0,35	0,36	0,34	0,26		r	0,18	
0,20	0,10	0,17	0,17	0,20	0,12	0,16	0,17	0,21	0,24	0,12		r	0,20	
0,30	0,20	0,30	0,28	0,30	0,26	0,23	0,27	0,26	0,22	0,09		r	0,21	
0,18	0,16	0,23	0,28	+	0,22	0,27	0,24	0,22	0,19	0,17		r	0,21	
0,26	0,29	0,39	0,23	0,30	0,38	0,26	0,25	0,07	0,13	0,13		r	0,24	
0,22	0,22	0,31	0,29	0,16	0,22	0,27	0,19	0,26	0,18	0,10		r	0,23	
0,27	0,17	0,34	0,17	0,28	0,10	0,14	0,29	0,31	0,28	0,14		r	0,24	
0,25	0,15	0,14	0,13	0,13	0,29	0,20	0,04	0,24	0,18	0,04		r	0,20	VIII
7+	7+	1+	1+	1+	4+	2+	1+	4+	4+					
0,42	0,29	0,27	0,24	0,24	0,12	0,21	0,32		0,15			r	0,12	
0,22	0,16	0,23	0,16	0,22	0,30	0,25	0,15		0,27			r	0,26	
4+	2+	2+	2+	2+		4+	4+		2+					VIII
0,41	0,22	0,43	0,13	0,23		0,40	0,27						0,21	

III.

[illegible]

garing nærmer sig Jordactinomyceterne, og en relativ større Del, der vokser bedre ved 22° end ved 37°.

Forholdet fremgaar af følgende Tabel:

	Syredannende undersøgt 23	Neutrale (unders. 12)	Alkalidannende (unders. 15)
Bedst ved 37°	74 %	33 %	53 %
» » 22°	4 %	25 %	6 %
Lige god Vækst ved 22° og 37°	22 %	42 %	41 %

Ogsaa dette kan maaske tages som et Fingerpeg i Retning af, at disse to Grupper Stammer er mere passagere Forekomster.

SYREDANNELSEN I EXTRAKTBOUILLON

Det er meget sjældent, at der ved Bakteriers Vækst i sukkerfrit Substrat dannes Syre, et Forhold paa hvilket den almindelige Forgæringsteknik i høj Grad støtter.

Hos Difteribacillen findes imidlertid en saadan primær Syredannelse, der afløses af Alkalidannelse, som først paavist af *Roux* og *Yersin* senere bl. a. af *Th. Madsen* (1896); i disse Forsøg kan det dog ikke udelukkes, at Syredannelsen kan skyldes den ringe Mængde Druesukker, der findes i Næringssubstratet. Senere Forfattere har undersøgt Spørgsmaalet med vekslende Resultat, og i 1930 er det atter taget op af *Andresen* og *Schroeder*. Efter disse Forfattere foregaar Syredannelsen ogsaa i ganske kulhydratfrit Substrat, og Ilttilførslen spiller en betydelig Rolle. De har fundet, at Syredannelsen bliver stærkere jo mere Serum, der tilsættes; den paafølgende Alkalidannelse bliver kraftigere, jo bedre Adgangen til Luft er.

Blandt de af mig undersøgte Stammer danner Hovedparten Syre i det sukkerfrie Substrat, et Omslag fra denne Syredannelse til Alkalidannelse har jeg kun iagttaget i eet Tilfælde, et Omslag til neutral Reaktion i to Tilfælde. Det omvendte, en primær Alkalidannelse med paafølgende Omslag til neutral eller sur Reaktion, er iagttaget i henholdsvis eet og to Tilfælde.

Der foregaar aabenbart ogsaa her to modsatrettede Processer, men for disse Bakteriers Vedkommende har Syredannelsen absolut Overtaget. Efter *Th. Madsen* skal Omslaget til Alkalidannelse for Difteribaciller ganske vist i sjældne Tilfælde kunne indtræffe saa sent som efter $\frac{1}{2}$ Aars Forløb. Jeg har haft Lejlighed til at iagttage nogle af Syrestammerne i 5—6 Maaneder, men ikke konstateret noget Omslag til Alkalescens hos dem.

Hos den enkelte Stamme, der viste Omslag, indtraf dette efter 24 Døgn's Forløb.

For at undersøge Syredannelsen nærmere foretog jeg paa Tilskynding af Dr. med. *P. H. Andresen* en Undersøgelse med en Række af mine Stammer — ialt 77 — efter lignende Metode, som er anvendt af ham og *Schroeder* i deres Undersøgelser over *Difteribacillens* Syredannelse.

Substratet var Serumbouillon af en noget anden Sammensætning end den, der er anvendt i de omtalte Forsøg, nemlig 8 % Serum i Extraktbouillon pasteuriseret $\frac{1}{2}$ Time ved 63° , Indicator Phenolrødt, pH ca. 7,6. Glassene var ca. 18 mm. i Diameter, Vædskemængden 3 cm³, og Glassene blev anbragt i næsten horizontal Stilling for at forøge Ilttilførslen. Til Sammenligning anbragtes Glas lodret i Stativer.

Den forøgede Adgang til Ilt udøvede ingen synlig Virkning paa Bakteriernes Vækst eller Syre- resp. Alkalidannelsen, og der iagttoges kun i eet Tilfælde Tilløb til Alkalidannelse efter primær Syredannelse, og i eet Tilfælde svag Syredannelse efter forudgaaende svag Alkalidannelse. Glassene titreredes med henholdsvis NaOH (1/10 n) og HCl (25 % 1/10 n + 75 % Aq.). Syredannelsens Grad forøgedes ikke ved Serumtilsætningen.

Da en yderligere Forgæringsundersøgelse af 30 nye Stammer var paakrævet, var det af Betydning at komme udenom den Vanskelighed, Syredannelsen i Extraktbouillon beredte Forgæringsforsøgene ved — om muligt — at finde et Næringssubstrat, hvori Syredannelsen ikke fandt Sted, men som dog kunde byde Bakterierne tilstrækkelige Existensbetingelser.

Først foretog jeg sammen med Dr. med. *P. H. Andresen* en Række Undersøgelser over Bakteriernes Vækst i syntetisk Substrat. Til første Undersøgelse anvendtes et Substrat A med følgende Sammensætning: NaCl 0,5, Na₂SO₄ (7 H₂O) 1,0, MgSO₄ (7 H₂O) 0,02, K.H₂PO₄ 0,1, K₂HPO₄ 0,3, Asparagin 0,5, Asparaginnatrium 0,5, Glukose 0,5, Na-acetat 0,5, Na-laktat 0,5, NH₄-succinat 0,5, Cystin $\frac{1}{8} \text{ ‰}$, Aq. dest. gram 200. pH = 7,0.

Kunde Stammerne gro heri, undersøgtes med enklere sammensatte Substrater, idet der altid anvendtes et Grundsubstrat (G) bestaaende af Salte, nemlig:

NaCl:	5
Na ₂ SO ₄ 7H ₂ O:	10
MgSO ₄ 7H ₂ O:	0,2
K H ₂ PO ₄ :	1
K ₂ H PO ₄ :	3
Aq. redest.:	660

hvortil saa blev sat et eller flere af følgende Stoffer i en 3 % Opløsning i Aq. redestillata:

Na-asparagin, Glukose, (NH₄)₂SO₄, Asparagin, Na-succinat, Na-acetat, Na-laktat, Nukleinsyre; i Reglen tilsattes lige Dele af hver Opløsning, undertiden dog ogsaa i andre Mængdeforhold; tillige anvendtes i nogle Tilfælde Tartrat, Glycogen, Maltose og Xylose.

Der saaedes rigeligt ud fra Agarplade, og naar Væksten i Substratet var god saaedes om i nyt Glas; var der god Vækst efter 5. Omsaaning, ansaas Substratet for egnet.

De undersøgte Stammer var følgende:

Syredannere:	1, 2, 3, 5, 23, 24, 48.
Neutrale I:	21, 29, 36.
» II:	6, 7, 15.
Alkalidannere:	16, 17, 18, 20, 44.

Ingen af Syredannerne voksede i Substrat A efter første Omsaaning, 5 og 23 voksede overhovedet ikke (5 er den stærkeste Syredanner i Materialet).

Neutrale I forholdt sig ganske som Syredannerne.

Af Neutrale II kunde 15 vokse i A ogsaa efter 5. Omsaaning, videre Forsøg viste: ret god Vækst i Grunds substrat + Nuclein + Acetat, og udmærket Vækst i G + Na-Asparagin + Xylose, derimod kunde den ikke vokse i G + Ammoniumsulfat + Xylose. De andre N^{II}-Stammer 6 og 7 voksede ved Udsæden noget, men ikke efter første Omsaaning.

Alkalistammerne klarede sig gennemgaaende langt bedre. 16, der imidlertid er en typisk vinkelvoksende Bakterie, voksede glimrende i Substrat A og klarede sig udmærket igennem en lang Række mere og mere enkelt sammensatte Substrater; saaledes f. Eks. sluttelig G + Asparagin + Lactat eller G + 2

Dele Asparagin og G + Ammoniumsulfat + Lactat, Acetat eller Succinat.

18 voksede godt i A og kunde vokse i G + Asparagin + Glycogen, derimod ikke i G + Na-Asparagin + Xylose.

Endelig voksede 20 paa Substrat A og G + Asparagin og Glycogen og bedre paa G + Asparagin-Na + Glycogen, samt udmærket paa G + Asparagin + Glukose, men ikke paa nogen af de andre undersøgte Substrater.

Paa Grund af denne gennemgaaende daarlige Vækst paa syntetisk Substrat maatte jeg opgive Anvendelsen af dette til Forgæringen, specielt kunde ingen af Syregruppen — den største og vigtigste indenfor disse Aktinomyceter — vokse paa syntetisk Substrat, disse Bakterier kræver en mere kompliceret Kvælstofnæring for at kunne existere, og skal de udfolde f. Eks. deres forgæringsmæssige Egenskaber i fuldt Maal, maa det kvælstofholdige Substrat være særlig rigeligt, som jeg senere skal omtale nærmere.

Jeg undersøgte nu, om den saakaldte Indolbouillon, der anvendes til Undersøgelse for Indoldannelse, og fremstilles af en Opløsning af trypsinfordøjet Kasein (1 kg. Kasein til 30 Liter Substrat), alkaliseret til $\text{pH} = 7.7$, hvortil føjes 10 Liter Postevand, mulig var et anvendeligt Substrat.

Indikatoren var Bromthymolblaat i den sædvanlige Koncentration (0,025 %).

Jeg udvalgte 10 stærkt syredannende Stammer, og saaede dem ud, dels fra Pladekultur, dels fra halvflydende Agar. De stillede i Thermostat ved 37° og blev tilset hver Dag i 15 Dage; der indtraf i alle Glas en let Farveforandring, der imidlertid ikke var stærkere, end man mulig med Held vilde kunne benytte Substratet til Forgæringsundersøgelser. Der fremstilledes derfor Sukkerglas med dette Substrat og $\frac{1}{2}$ % Sukker, dels »Indolglukose« og dels »Indolsaccharoseglas«, samt et »Indolkontrolglas« uden Sukkerart, og til Sammenligning Extraktbouillonglukose og Extraktbouillonsaccharose.

Der saaedes denne Gang ud fra de tre stærkest syredannende Stammer, dels fra Pladekultur, dels fra Bouillonkultur. Plade-

kulturerne anvendtes her som i forrige Forsøg for at udelukke den Fejl, der mulig kunde fremkomme ved Bouillontilblandingen.

Det viste sig nu, at Syredannelsen overalt var kraftigst i Extraktbouillonglassene. I de Indolglas, der var tilsaaede med Bouillonkultur, var der en let Syredannelse, men ikke stærkere Farveforandring end i Indolkontrolglasset. Ved den mere massive Udsæd fra Pladekulturen forgæres Indol-Glukose-Glassene ligesaa hurtigt og kraftigt som Extraktbouillonglukosen, medens Indol-Saccharose-Glassene kun forgæres svagt og ikke engang saa stærkt som Indol-Kontrolglassene. Bakterierne synes at trives daarligere i dette Substrat, og det frembød ingen Fordele for Extraktbouillon; heller ikke halvflydende Agar var bedre, skønt Bakterierne voksede glimrende heri.

Jeg besluttede da at undersøge Extraktbouillonens to Bestanddele hver for sig, og udsaaede to stærkt syredannende Stammer i følgende Substrater.

- 1) Kødextrakt 2 % NaCl $\frac{1}{2}$ %
- 2) — 1 % » $\frac{1}{2}$ %
- 3) Wittepepton 2 % » $\frac{1}{2}$ %
- 4) — 1 % » $\frac{1}{2}$ % endvidere:
- 5) Extraktbouillon forgæret med Gær
- 6) Extraktbouillon.

Den sidste medtoges som Kontrol.

Forsøget strakte sig over 15 Dage. Microorganismene var saaet ud fra mikroskoperet Pladekultur.

Den kraftigste Syredannelse fandtes i Extraktbouillon. I Kødextrakt 2 % og 1 % var der lige kraftig Syredannelse (kolorimetrisk bestemt), men noget svagere end i Extraktbouillon, i den forgærede Bouillon ganske svag Syredannelse og Wittepepton 2 % og 1 % ingen Syredannelse.

Derefter foretoges Forsøg med Wittepeptonsukkerglas (2 % Wittepepton). Sukkerarterne var Glukose og Galaktose, der forgæredes hurtigt i første Forsøg, og Erythrit og Adonit, der ikke forgæres her.

Resultaterne ses paa følgende Skema:

	Kød- ekstrakt		Witte- Pepton		2 % Witte-Pepton opløsning med				For- gæret Bouillon	Ex- trakt- Bouillon
	2 %	1 %	2 %	1 %	Glu- kose	Galak- tose	Ery- thrit	Ado- nit		
156	1 ²	1 ²			+ ²	+ ⁴	1 ⁴			+ ⁴
162		1 ⁴			1 ²	1 ²				1 ⁵
97	1 ²	1 ²			+ ²	1 ²			1 ²	+ ⁴
100	1 ⁴	1 ⁴			1 ²				1 ²	+ ⁵
106	1 ²	1 ²			1 ³	+ ⁴			1 ³	1 ²
113	1 ²	1 ²			+ ²	+ ²			1 ²	+ ⁴
170	1 ²	1 ²			1 ²	1 ²			1 ²	1 ²

Glassene iagttoges i 15 Dage ved 37°. + angiver fuld For-
gæring, 1 begyndende. Tallet angiver den Dag paa hvilken den
paagældende Farveforandring fandt Sted.

Af Skemaet fremgaar, at Sukkernedbrydningen for de Suk-
kerarter, der let forgæres, foregik godt — og uden Syredan-
nelse i Wittepeptonkontrolglassene, endvidere at Syredan-
nelsen hovedsagelig skyldes Kødextrakten, men at den foregaar
hurtigere og kraftigere, naar Witte-Pepton er føjet til.

Udsæden i Glassene, der blev foretaget fra Pladekulturer,
var ret massiv. Syredannelsen i Extraktbouillon-Glassene og
Forgæringerne i Witte-Pepton-Sukker-Glassene er i dette Forsøg
ogsaa foregaaet langt hurtigere end ved andre Forsøg med rin-
gere Udsæd. For Forgæringerne af Sukkerarterne og for Syre-
dannelsen i Bouillon har det stadig vist sig, at Mængden og
Vitaliteten af de udsaaede Stammer var af stor Betydning; der
er derfor ogsaa i de sammenlignende Forsøg lagt Vægt paa, at
Udsæden i Glassene saavidt muligt har været ensartet.

Et andet Forhold, som ved de ofte gentagne Forsøg med Ud-
sæd i Extraktbouillon Gang paa Gang har manifesteret sig, var
den Forskel i Styrken af Syredannelsen, der kunde være paa
de enkelte Portioner Extraktbouillon. I nogle foregik Syredan-
nelsen hurtigere og var stærkere udtalt end i andre, skønt de
forskellige Portioner var fremstillede efter samme Recept. Nogle
enkelte Forsøg, jeg anstillede med forskellige Arter af Kød-
ekstrakt (Karbow, Liebig, Oxo, Liebox) i 1 % Opløsning med
1 % Witte-Pepton og 1 % Salt, hvori udsaaedes en Syrestamme
(Stamme 87) og en Alkalistamme (Stamme 16) viste for Stam-
me 16's Vedkommende i alle Glas ens Alkalidannelse, for Stamme

87 nogen Syredannelse i alle Glas, mest udtalt i Liebig-Glasset.

Denne ejendommelige Syredannelse i sukkerfrit Substrat gav Anledning til en Række Overvejelser. Kendskabet til de biokemiske Processer ved Bakteriernes Vækst i kunstigt Substrat er endnu i sin Vorden og Forsøg paa en Forklaring kan derfor kun blive meget løst underbygget. Udforskningen af disse Problemer ligger ogsaa udenfor dette Arbejdes Rammer, men jeg har dog ikke kunnet modstaa Fristelsen til at søge at løfte Sløret lidt for de interessante Processer, der ligger til Grund for Syredannelsen.

Den paa SerumInstitutet til Forgæringsundersøgelser anvendte Extraktbouillon regnes for sukkerfri, selv om det ikke kan udelukkes, at der findes et ringe Spor af Sukker i den, men Sukkermængden er i alt Fald saa ringe, at den med de almindelig paa Institutet undersøgte Bakterier ikke kan paavises, og den kan derfor næppe foraarsage den omtalte kraftige Syredannelse. Paa Skemaet Side 52 ses tillige i Rubrik 9, at der ved Udsæd af Bakterierne i forgæret Bouillon finder en Syredannelse Sted; men den er dog ringere end i den uforgærede.

Da jeg nu ikke helt kunde udelukke Muligheden af, at et ringe Sukkerindhold dog var ansvarligt for Syredannelsen, vilde jeg gerne i første Række have oplyst, hvor megen Mælkesyre der fandtes i et utilstaaet Extraktbouillonglas, og hvormeget der fandtes, naar Bakterierne havde vokset deri til fuld Syredannelse.

Dr. med. *S. Ørskov* paatog sig elskværdigst Undersøgelsen, der foretoges som kvantitativ Undersøgelse for Mælkesyre, dels i utilstaaet Extraktbouillon, som den anvendes i Kontrolglassene, dels i den samme Bouillon, i hvilken der havde vokset Bakterier til tydelig Syredannelse, hvorefter Bakterierne var fjernede ved Centrifugering.

I den sterile Bouillon fandtes der en uventet stor Mængde Mælkesyre (Bouillonens var 1/50 normal med Hensyn til Mælkesyre, d. v. s. 20 millinormal), men i den Bouillon, der havde tjent som Næringssubstrat, gav Undersøgelsen det overraskende Resultat, at Mælkesyren var forsvundet, og samtidig var Mængden af de andre ætheropløselige Syrer tiltaget stærkt.

Jeg er ikke i Besiddelse af de nøjagtige Tal fra denne Un-

dersøgelse, men en senere foretagen Kontrolundersøgelse gav følgende Resultat:

Samlede ætheropløselige Syrer i det sterile Substrat:

	12,7 millinormal,
heraf Mælkesyre	6,2 millinormal.

I Bouillon, hvori Bakterierne har vokset i 8 Døgn:

Samlede Mængde ætheropløselige Syrer:	21,2 millinormal,
heraf Mælkesyre	0,2 millinormal.

Ved disse 2 Forsøg hæfter man sig straks ved den iøjnefaldende Forskel, der er i Indholdet af Mælkesyre i de to Portioner steril Extraktbouillon, i første Forsøg Mælkesyremængde: 20 millinormal, i andet 6,2 millinormal; tillige viser Forsøget, at den Mælkesyre, der findes i Bouillon — Paramælkesyre — kan udnyttes af Bakterierne, og det ligger nær at antage, at dette har Betydning for den spontane Syredannelse i Bouillon. At Syredannelsen kan svinge meget for samme Stamme i forskellige Portioner Extraktbouillon, saaledes som jeg har omtalt det, bliver ogsaa herigennem forstaaeligt. Ved et Forsøg, der foretoges med Stamme 76, udsaaet dels i Witte-Peptonopløsning 2 %, dels i Witte-Peptonopløsningen tilsat saa megen Paramælkesyre, at Opløsningen blev 1/50 normal med Hensyn hertil, viste der sig en ganske ringe Syredannelse i Mælkesyreglassene. Syredannelsen var dog langt ringere end den, der fremkaldes af Stammen i Extraktbouillon, selv om 76 ikke hører til de stærkest syredannende. Forholdet synes saaledes ikke at ligge helt saa ligetil, det er sandsynligvis mere indviklede Processer, der er Tale om, men ogsaa dette Forsøg tyder paa, at Mælkesyren spiller en Rolle derved.

Et ejendommeligt Forhold, som jeg kort har berørt i Kapitlet om Forgæring Side 33, skal jeg nu komme lidt nærmere ind paa. Jeg omtalte der, at for nogle af de syredannende Stammers Vedkommende indtraf det fuldstændige Omslag til gult tidligere i Kontrolglasset end i flere Sukkerglas, samt at det hændte, at der ved Forsøgets Afslutning fandtes ikke helt forærede Sukkerglas sammen med helt »forgærede« Kontrolglas. Man kunde nu vente, at man i de Glas, i hvilke Farveforandringen var mindre udtalt end i Stammernes Kontrolglas, vilde faa

alkalisk Reaktion ved at tildryppe Kontrolglassets Titertal, dette fandt imidlertid kun Sted i enkelte Tilfælde.

At der dog til Tider virkelig fandt mindre Syredannelse Sted i Sukkerglasset end i Kontrolglasset, synes bekræftet ved følgende Forsøg: Stamme 87 blev saaet ud i 9 Kontrolglas og 9 Laktoseglas og henstod i Thermostat ved 37° i ca. 2 Maaneder. Væksten var i alle Glas udmærket. Til et andet Forsøg frætoges imidlertid de fire Kontrolglas, som viste stærkest Syredannelse (Farven ren gul $pH < 6$). De andre 14 Glas titreredes med følgende Resultat (Tallene angiver cm^3 1/10 n NaOH. Vædskemængden i Glassene som sædvanlig ca. 3 cm^3).

Kontrolglas	Laktoseglas
0,51	0,24
0,46	0,2
0,40	0,28
0,46	0,29
0,38	0,26
	0,22
	0,3
	0,21
	0,27.

De fire frtagne Kontrolglas viste som sagt stærkere Syredannelse end de titrerede, og i dette Forsøg har der altsaa været svagere Syredannelse i Sukkerglassene end i Kontrolglassene.

Med Inulin som Sukkerart stillede Forsøget sig anderledes:

Kontrolglas	Inulinglas	
0,3	1,10	
0,29	1,18	
0,36	1,14	
0,34	1,16	
0,32	1,20	Titreret efter 1 Maaned.
0,35	1,18	
0,34	1,17	
0,31	1,18	
0,38	1,13	

Her er det naturligt at antage, at der har fundet en Inulinforgæring Sted.

Laktoseforsøget er vanskeligere at forklare. Selv om man gaar ud fra, at Stamme 87 ikke kan nedbryde Laktose, giver det dog ingen Forklaring paa, at den ikke kan danne samme Mængde Syre af Extraktbouillon, naar der er Laktose til Stede, som naar der ikke er det; men hertil kommer yderligere, at 87 er en Mælkesyrebakterie, altsaa at en af dens vigtigste Egenskaber er dens Evne til Laktosenedbrydning under Dannelse af Mælkesyre; man maa derfor snarere tro, at den ringere Syredannelse ikke skyldes en manglende Laktosenedbrydning, men at Stofskiftet ved Laktosens Nærværelse er blevet ændret saaledes, at Nedbrydningsprodukterne er blevet mindre sure.

Lignende Forhold som de her fundne for Actinomyceter af Gruppe II b er af flere Forfattere beskrevne for Mælkesyrebakteriernes Vedkommende. Saaledes undersøger *van Dam* 1918 Mælkesyrens Indflydelse paa Mælkesyregæringen, og kommer til det Resultat, at det, der hæmmer Mælkesyregæringen, d. v. s. Laktosenedbrydningen, hverken er Laktat- eller Brintionerne, men det udissocierede Mælkesyremolekyl.

Da Substratet her er rigt paa Mælkesyre kunde det tænkes, at dette var Aarsagen til den ringe Forgæring af Laktosen i Laktoseglassene, men ogsaa Udnyttelsen af Mælkesyren synes at være ringere i Laktoseglassene.

Koestler har i 1907 vist, at der af *Bacil. casei* ϵ af Pepton dannes surt reagerende Substanter (med Phenolphthalein som Indicator) og des mere, jo mere Pepton, der var i Kulturen; han mener derfor, at Peptonet tjener som Næringsstof, dette bestrides af *van Dam*, og *Timpe* er endda kommet til det Resultat, at den for Mælkesyrebakteriernes Livsvirksomhed gunstige Virkning af en Forøgelse af Æggehvidesubstanterne i Kulturmediet skyldes disses Evne til at binde Mælkesyre; iøvrigt som omtalt den vistnok for Tiden mest gangse Opfattelse.

I *Orla-Jensens* Arbejder over Mælkesyrebakterierne er der ikke gjort Forsøg med Væksten i sukkerfrit Næringssubstrat.

Der er som omtalt undersøgt en Række Kvælstofsubstrater for Brugbarhed, men denne undersøgtes ved at tilføje 2 % Glukose til Substratet, og bestemme den deraf dannede Syremængde.

I »Studies in the metabolism of actinomycetes« (1920) skriver *Waksman* om Jordactinomyceterne, at med NaNO_3 som Kvælstofkilde og forskellige Kulstofkilder vil Substratet tendere til at blive alkalisk, sætter man NaNO_2 i Stedet for NaNO_3 vil de Organismer, der kan gro her, gøre Substratet surt. Forklaringen er følgende: Actinomyceterne reducerer Nitrater til Nitritter; den frigjorte Ilt forener sig med Brintionen og Substratet bliver alkalisk.

Hvis der er Ammoniumsalte af stærke Syrer til Stede som eneste Kvælstofkilde, vil Substratet tendere til at blive surt, fordi Kationen bruges af Organismen, og Anionen bliver tilbage.

Han skriver videre: Med Proteiner og Aminosyrer kan Reaktionen forblive uforandret, afhængig af Art, Kulstofkilde og oprindelig Brintionkoncentration.

Visse Arter synes at forandre Reaktionen af Protein- og Aminosyremediet altid til alkalisk, andre altid til surt. *Actinomyces scabies* fremkalder næsten altid Alkali, medens *Actinomyces asteroides* næsten altid danner Syre.

Side 37 skriver han, at der er en Mulighed for, at denne Reaktionsforandring i et Kulturmedium, der indeholder Proteinstoffer, fremkaldt ved Microorganismers Vækst, kan skyldes, at denne særlige Microorganisme kan angribe en bestemt Aminosyregruppe i Proteinmolekylet. Den Kendsgerning, at Microorganismerne udnytter de forskellige Aminosyrer i forskellig Grad, kan kaste lidt Lys over dette Spørgsmaal.

Tilstedeværelsen af et brugbart Kulhydrat i Mediet synes at begunstige Reaktionsforandringen til det sure; dette forklares ved Virkningen af Kulhydrat paa Organismernes Kvælstofstofskifte og ikke ved direkte Syreproduktion.

Tilføjelse af Stivelse til Substratet gjorde det i en Del Tilfælde mere surt, men deraf — mener *Waksman* — tør man ikke drage den forhastede Slutning, at det skyldes Syreproduktion af Stivelsen, der blev maaske ikke dannet nogen Syre, men Stivelsens Nærværelse resulterede i en ændret Udnyttelse af Gelatinen, hvilket fremkaldte en ændret Reaktion. Undersøges det nærmere, viser det sig, at Gelatine angribes mindre, naar der er Stivelse til Stede, og da Reaktionen saa i Reglen er mere sur,

kan man slutte, at Alkalescensen skyldes Gelatinenedbrydning, og at en større Surhedsgrad ikke skyldes Syredannelse af Stivelse, men at en mindre Mængde Gelatine sønderdeles.

Der er ingen Tvivl om, at der i de beskrevne Forhold ligger et betydningsfuldt Problem, som venter paa sin endelige Løsning.

Rent praktisk understreger det Nødvendigheden af altid ved Forgeringsundersøgelser at medtage et sukkerfrit Kontrolglas.

II. FORGÆRINGSRÆKKE

Som omtalt var det mig magtpaaliggende, da anden Forgæringsrække skulde paabegyndes at finde et Substrat, i hvilket Bakterierne voksede godt uden den forstyrrende Syredannelse, og efter en Række Forsøg for hvilke der er gjort Rede i Kapitlet om Syredannelse, bestemte jeg mig for et kvælstofholdigt Substrat bestaaende af Wittepepton 2 %, hvortil føjedes NaCl $\frac{1}{2}$ % og $\frac{1}{2}$ % Sukkerart.

Indicatorens var ogsaa her Bromthymolblaat 0,025/00. pH = 7,5—7,6. Sukkerarterne de samme som i første Forsøg, dog er Laktosit udgaaet, da det paa det daværende Tidspunkt ikke kunde skaffes.

I dette Substrat voksede Stammerne tilsyneladende ligesaa godt som i Extraktbouillon og uden Farveforandring af det sukkerfri Kontrolglas.

For at undgaa enhver Tilblanding af Bouillon blev Stammerne, der havde vokset heri i 2 Døgn, før Udsæden centrifugeret ned, vaskede med Saltvand og opslemmede i Saltvand. Fra denne Opslemning pipetteredes 2 Draaber ud i hvert Glas.

Glassene, der stod ved 37° i en Maaned, blev daglig tilset.

Da der ingen Farveforandring var i Kontrolglasset, kunde Aflæsningen for de ved Forsøgets Afslutning fuldt forgærede Sukkerglas foretages uden videre, og paa Skema IV angiver Tallet opad til højre den Dag, paa hvilken Farveomslaget til rent gult fandt Sted.

Imidlertid var der i mange af de ikke helt forgærede Glas en meget tydelig Farveforandring, og det forekom mig rimeligt i alt Fald til en vis Grad at regne med disse Forgæringer, dels paa Grund af den helt igennem sene Forgæring, dels for mulig

at faa et bedre Sammenligningsgrundlag med første Forsøgsrække, hvor enhver Syredannelse var regnet med. Jeg foretog derfor efter Forgæringstidens Ophør en kolorimetrisk pH Bestemmelse i alle delvis forgærede Glas, og har sat Grænsen for hvad jeg regnede for Forgæring ved $\text{pH} = 6,5$. Tallet nedad i Rubrikken til venstre angiver den kolorimetrisk bestemte pH.

Rubrikken »Reaktion« yderst til højre angiver Stammernes spontane Syredannelse i Extraktbouillon, som undersøgtes ved at lade Stammerne vokse en Maaned i Extraktbouillon med Indicator (Bromthymolblaat). $\div$ er manglende Reaktion, (+) er yderst svag Reaktion + og ++ kraftigere, +++ : ren gul Farve.

Som man ser, findes der ingen Alkalidannere i dette Materiale, der blev udvalgt med strengere Fordringer til den morphologiske Overensstemmelse med Gruppe II b end det første Materiale.

Betragter man nærmere Rubrikken Reaktion i Relation til Forgæringerne ses, at de to neutrale har næsten sammenfaldende Forgæringsskema, idet den eneste Forskel ligger i 134's Mannitforgæring, den tredie forgæringsmæssigt herhenhørende Stamme er en meget svag Syredanner. Det ses endvidere, at Hovedmængden af de forgæringsmæssigt nærmest sammenhørende 16 Stammer har stærk Syredannelse i Bouillon, medens denne i Grupperne med svagere Forgæringsevne ogsaa gennemgaaende er svag.

Det første, der slaar en, naar man betragter Skemaet over disse dog for Størstedelen stærkt syredannende Stammer, er dels den sene Forgæring, dels det iøjnefaldende, at Stammerne forgærer færre Sukkerarter end med den først anvendte Teknik, særlig gælder dette Di- og Trisacchariderne, Polysacchariderne og Glykosider, medens de øvrige forholder sig ret ens, og der endda er Overvægt for Arabinose.

Forholdet fremgaar iøvrigt af følgende Skema, der procentvis angiver, hvormange Stammer der har kunnet forgære den paagældende Sukkerart med henholdsvis Extraktbouillon og Wittepepton som kvælstofholdigt Substrat:

	Glycerin	Erythrit	Adonit	Mannit	Dulcit	Sorbit	Laktosit	Inosit	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Glukose	Lævulose	Galaktose	Mannose	Laktose	Saccharose	Maltose	Raffinose	Melizitose	Dextrin	Glycogen	Inulin	Stivelse	Salicin	Amygdalin	Arbutin
Exbouill.	87	0	0	3	1,5	0	64	84	70	96	19	98	97	97	98	81	98	100	90	84	98	96	78	97	75	40	—
Vittepept.	30	0	0	6,6	0	0	—	70	100	96	13	86	86	93	76	23	70	66	73	6	73	3	23	0	17	10	—

For de 23 af de 30 Stammer, der undersøgtes efter denne Teknik, er Forgæringsresultatet i store Træk det samme. De forgærer Inosit, Pentoserne, Monosacchariderne, Disacchariderne undtagen Laktose, Raffinose og Dextrin, hertil kommer for nogle Stammer Glycerinforgæring og 2 forgærer Mannit, 2 Rhamnose, 5 Laktose, 2 Melizitose, 1 Glycogen, 7 Inulin og 1 Amygdalin; tillige findes der Stammer, der ikke forgærer en eller flere af de omtalte Sukkerarter.

Efter disse Forskelligheder er de inddelt i Undergrupperne (Skema IV):

- a) forgærer som angivet, dog har nogle enkelte Stammer Glycerinforgæring og nogle forgærer Inulin
- b) afviger mest ved at forgære Laktose
- c) forgærer ikke Inosit og Raffinose
- d) afviger ved at mangle Inosit — Lævulose — og Maltose-forgæring og
- e) mest ved den positive Rhamnoseforgæring.

De 7 sidste Stammer forgærer betydelig færre Sukkerarter, idet de — praktisk talt — kun kan nedbryde Pentoserne og Monosacchariderne. De falder, som det fremgaar af Skemaet i 3 Grupper, hvoraf den ene paa kun een Stamme. Den sidste Gruppe paa 4 Stammer er ejendommelig ved at mangle Glukose-forgæringen, der ellers er ret konstant til Stede.

For at faa et Indtryk af Muligheden for at sammenligne disse 2 Forgæringsrækker, udført med forskellig Teknik, har jeg undersøgt nogle Stammer fra første Forgæringsrække overfor Laktose og Inulin, dels med Wittepeptonopløsning, og dels med Extraktbouillon som kvælstofholdigt Substrat. Jeg har valgt disse Sukkerarter, fordi de procentvis forgæres betydelig daar-

ligere i II Række, men dog ikke hører til de allerdaarligst for-gærede. Stammerne er Nr. 10—76 og 87. 10 valgtes fordi den i første Forsøg viste kraftig og ret hurtig Laktoseforgæring, 76 viste baade kraftig Inulin- og Laktoseforgæring og 87 særlig hurtig og kraftig Inulinforgæring. Stamme 10 blev undersøgt alene overfor Laktose, 76 baade for Laktose og Inulin og 87 alene for Inulin.

Efter 4 Døgn var Forgæringerne som vist paa nedenstaaende Skema:

	Laktose		Inulin	
	Exb.	Wp.	Exb.	Wp.
10	2 ^a	0		
76	4 ¹	0	4 ¹	1 ⁴
87			4 ¹	3 ³

Stamme 10 viste i Laktoseextraktbouillonglasset middel Farveforandring fra 3. Dag, i Wittepeptonglasset ingen Reaktion. 76 fuld Forgæring i Laktoseextraktbouillonglasset fra 1. Døgn, ingen Farveforandring efter 4 Døgn i Wittepeptonglasset. For Inulinglassene: Extraktbouillon fuldt forgæret første Døgn, svag Farveforandring i Wittepeptonglasset 4. Døgn og endelig 87 i Inulin: Extraktbouillonglas færdig forgæret første Døgn, Wittepeptonglas næsten fuldt forgæret 3. Døgn; efter en Maa-ned var dette sidste fuldt forgæret, de andre Glas uforandrede.

Sammensætningen af det kvælstofholdige Substrat har for Forgæringsevnen hos disse Bakterier en saa stor Betydning, at Forsøgsrækker udført med forskellig Kvælstofsubstrat ikke di- rekte kan sammenlignes.

Men i dette i II Række undersøgte Materiale, der kun bestaar af Syredannere og 2 Neutralstammer gør Forgæringernes Ens- artethed sig dog ogsaa tydeligt gældende. Større Afvigelser fin- des mest i Gruppe IV med de svage Syredannere, et bedre egnet kvælstofholdigt Substrat vilde utvivlsomt ogsaa for denne Gruppe forøge Antallet af forgerbare Sukkerarter betydeligt.

Taget som et Hele viser Forgæringsresultaterne først en tal- mæssigt stærkt overvejende Gruppe, karakteriseret ved Forge-

ring — i egnet Substrat — af alle undersøgte Sukkerarter med Undtagelse af Alkoholerne Erythrit, Adonit, Mannit, Dulcit, Sorbit og Methylpentosen Rhamnose, og visende Syredannelse i Kontrolglasset; dernæst en langt faatalligere Gruppe, der i Forgæringerne ligner den foregaaende, men mangler følgende Sukkerforgæring: Galaktose, Laktose, Raffinose, Melizitose, Inulin, Amygdalin, og som ikke forandrer Kontrolglassets Reaktion, og en Gruppe, der heller ikke forandrer Kontrolglasreaktionen, men som kun forgærer Xylose, og endelig en tilsyneladende ret heterogen Gruppe, der danner Alkali i Kontrolglasset og har endnu langt færre Forgæringender første Neutralgruppe, nogle af dens Stammer forgærer slet ingen af de undersøgte Sukkerarter, andre en enkelt, nogle en lille Række, og en Stamme forgærer omtrent som Syregruppen.

Den ovenfor viste Tiltagen af Actinomyceternes Forgæringsevne overfor Sukkerarterne i rigere kvælstofholdigt Substrat er tidligere iagttaget af *Lieske*, der skriver, at Dannelsen af Enzymer bliver des stærkere jo bedre Næringssubstratet er.

Waksman har 1920 offentliggjort en Række indgaaende Undersøgelser over Jordactinomyceternes Stofskifte. Han har gjort den samme Iagttagelse, men udtrykker den paa en anden Maade; han fremhæver nemlig, at Tilstedeværelsen af gode Kulstofkilder som f. Eks. Glukose bevirker, at baade Amider og Ammoniumsalte kan anvendes som Kvælstofkilde, medens Ammoniumsalte med f. Eks. Glycerin som Kulstofkilde er den daarligste Kvælstofkilde.

Det samme Fænomen gør sig gældende for Mælkesyrebakterierne og har af Mælkebakteriologerne været gjort til Genstand for mange Undersøgelser.

Ierhjemme har især *Orla-Jensen* beskæftiget sig med Spørgsmaalet og anstillet talrige Undersøgelser for at finde det bedste kvælstofholdige Substrat og bestemme hvilke Bestanddele, der har den afgørende Betydning for Forgæringen af Bakteriernes Forgæringsevne.

I *The lactic acid bacteria* (1919) skriver han S. 28: ...but also because further study has shown, that lactic acid bacteria really grow most rapidly, and are able to ferment more sugars

(i.e. become most abundantly supplied with enzymes) in those nutritive substrates in which they form most acid. Og S. 32: Their demands in regard to nitrogenous food are further increased when dealing with sugars, more difficult to fermentation, such as for instance inulin, which is often only affected when certain definite sources of nitrogen are present. Only when the nitrogenous nourishment is in all respects sufficient lactic acid bacteria are able to produce the numerous different enzymes (invertase, maltase, lactase, inulinase etc.) which are required to decompose the di- and polysaccharides. Samme Sted skriver han: ...several strains are unable to ferment grape sugar, if they have only $\frac{1}{2}$ % Wittepepton available.

For at finde det bedst egnede kvælstofholdige Substrat undersøger han følgende Række: Hesteserum, Liebigs Kødextrakt, Cibils Kødextrakt, Wittepepton, Caseinpepton og Gærextrakt, dels med dels uden 2 % Wittepepton. Til alle Substrater føjedes 2 % Glukose. Om Resultatet skriver han bl. a. Side 25: ...meat extract—was on the whole at least as good a source of nitrogen as casein peptone.

Ved den IX internationale Mejerikongres i København 1931 har *Orla-Jensen* gjort Rede for en Række Forsøg, der er udført for at bestemme, hvilken Bestanddel i disse kvælstofholdige Substrater, det er, der har den afgørende Betydning for Forøgelsen af Bakteriernes Forgæringsevne. Han er kommet til det foreløbige Resultat, at den aktiverende Faktor synes at dannes under Sterilisationen som en Forbindelse af Methylglyoxal med en kvælstofholdig Bestanddel. I denne Faktor kan Methylglyoxalen erstattes af Pentose, og han udkaster derfor den Hypotese, at Faktoren mulig er af lignende Natur som Kozymase, idet — efter *Euler* og *Myrbäck* — Gærcellernes Kozymase skal være en pentoseholdig Nucleinsyre.

Methylglyoxalen dannes blandt mange andre Stoffer ved Substratets Opvarmning med kvælstofholdige Produkter.

Det er kun med Gærautolysat som Næringssubstrat, at det tydelig viser sig, hvilken stor Rolle, det spiller, at Sukkeret steriliseres sammen med Næringssubstratet, og Virkningen er ogsaa kun en fremskyndende, idet Forgæringen ogsaa finder

Sted i det Substrat, hvor Sukkeret er steriliseret for sig selv og bagefter tilføjet, men den indtræffer langt senere.

I mine Forsøg er — som omtalt tidligere — Sukkerarterne steriliserede sammen med det kvælstofholdige Substrat, som dels har været Kødextrakt + Wittepepton, dels Wittepepton alene.

Om Bakteriernes stærkt nedsatte Forgæringsevne i sidstnævnte Substrat skyldes, at der ikke dannes den omtalte aktiverende Faktor — eller maaske ikke Methylglyoxal — ved Sterilisering af Sukkerarterne med Wittepepton alene, eller om den mulig hænger sammen med de forskellige Forhold, der bydes Bakterierne i de forskellige Kvælstofsubstrater maa staa hen. En Støtte for den første Antagelse er den Overvægt i Forgæringsevnen overfor Pentoserne, der findes i II Forgæringsrække (Skemaet S. 61), idet Pentoserne som omtalt skal kunne erstatte Methylglyoxalen.

De to Forgæringsrækker understreger, hvor vigtigt det er ved disse Bakteriernes Forgæring, at Teknikken angives nøjagtigt.

	Glycerin	Erythrit	Adonit	Manni	Dulcit	Sorbit	Inosit	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Glukose	Levulose	Galaktose	Mannose
132							+12 6,5+	6,5+			6,1+	6,4+	6,2+	+
131							+12 6,1+	+12 6,1+			-15 6+	6+	6+	6,3+
153							+14 6,3+	6+			6,2+	6,5+	6+	6,4+
126							+17 6+	6+			+16 6+	6+	6+	+
163							+20 6+	6+			+5 6+	6+	+5	6+
123							+11 6,1+	6,1+			-9 6,2+	6,2+	6+	6,3+
170							+9 6+	6+			-7 6+	+7 6+	+23 6,2+	6,2+
140	+21						6+	6+	6+		6+	+9 6+	+5 6+	6+
154	+25						+25 6+	6+	6+		-8 6+	+8 6+	+5 6+	+
106	+6						+17 6,3+	6,3+	6+		-12 6,4+	6,4+	+9 6,5+	6,5+
139	6,5+						+16 6,1+	6,1+	6+		6+	6,2+	6,1+	
128							+12 6,1+	6,1+	6,1+		-8 6,1+	6,1+	+9 6,1+	6,1+
152							+10 6,1+	6,1+	6+		6,2+	6,3+	+25 6,5+	6,5+
171	+23						+21 6+	6+	6+		6+	6+	+26 6+	6+
156	6,2+						+9 6+	6+	6+		+11 6+	+20 6+	+	+
160	6,1+						+25 6+	6+	6+		+8 6+	+8 6+	+8 6+	+

V.

Laktose	Saccharose	Maltose	Raffinose	Melzitose	Dextrin	Glycogen	Inulin	Stivelse	Salicin	Amygdalin	Arbutin	Reaktion	
	+4	6,5+	+10		6,4+							+++	a
	+2	6,2+	+5		6+							+++	
	6,2+	6,2+	+4		+4							+++	
	+25	+22	+11		+26							++	
	+3	+6	+7		6,3+		6,4+					+++	
	+9	+19	6,2+		+11		+4					+++	
	+6	6,1+	+6		6,2+		6,5+					+++	
	6+	6,3+	+19		+4		6,3+					+	
	+6	+10	+5		+7					6,2+		+++	
	+20	+20	6,5+	+22								++	b
	+10	+24	+10		6,3+		6,1+					+++	
+2	+2	6,1+	+11		+22		+19					+++	
5+	+11	6,3+	6,3+		+11		6,5+					+	
6+	6,1+	6+	6,1+		6,3+							+	
+7	+11	+7	+12		+7							+++	
2+	6,3+	+8	6+	+9	6,4+	6,2+						+	

M Æ L K

De mange Lighedspunkter, som Actinomyceterne af Gruppe II b i deres biochemiske Reaktioner frembød med Mælkesyrebakterierne, bragte mig naturlig paa den Tanke, om Actinomyceterne ikke i Virkeligheden var Mælkesyrebakterier.

Ved Gennemgang af Litteraturen med Henblik herpaa fandt jeg hos *Lieske* i »Morphologie und Biologie der Strahlenpilze« en Undersøgelse over Actinomyceternes Forhold overfor Mælk. Det fremgaar heraf, at en Række af hans Straalesvampe i større eller mindre Grad kan koagulere Mælk, i Følge hans Undersøgelse paa Grund af direkte Enzymvirkning, hvilket han viser paa forskellige Maader, og bl. a. støtter med, at næsten ingen af hans Stammer kan forgære Laktose, og altsaa heller ikke danne Syre heraf, og at de af Straalesvampene koagulerede Mælkekulturer i Reglen ikke viste sur, men neutral eller alkalisk Reaktion. Han skriver S. 156: »Dass Strahlenpilze bei der Gerinnung der Milch in technischen Betrieben neben anderen Organismen beteiligt sind, ist sehr wohl möglich.« *Kuntze* skriver 1908 i »Studien über fermentierte Milch« om *Bac. acidophilus*, at den har om *Actinomyces* mindende Kølleformer. Ostebakterien *Bac. casei* δ har forgrenede Kolonier, *Bac. Casei* α viser ogsaa Forgreninger (*Emmenthalerostens* Bakterie er *Bac. casei* ϵ , der ikke er forgrenet).

Chatterjee skriver i 1910 om »A new lactic acid producing streptothrix found in the fermented milk of India, called the Dadhi.« Den danner store Mængder Mælkesyre, gror ikke paa almindeligt Næringssubstrat. Paa fast Substrat danner den lange Traade, nogle »bøjede som Kanterne af et Blad«, andre drejede eller skrueformede. *Chatterjee* mener selv, det er en Straalesvamp, af Beskrivelsen er det ikke muligt at afgøre, om

det drejer sig om en ægte Actinomyces. *Lieske* omtaler Arbejdet og mener, det er en Organisme, der hører til Difteribacilgruppen. Ganske interessant i denne Forbindelse er ogsaa *Knorrs* Arbejde: »Zur differentialdiagnostischen Bedeutung und Technik der Katalasereaktion.« Han anvender Katalasereaktionen (Luftudvikling ved Overhældning af Kulturen med 3 % H_2O_2 -Opløsning) til at skelne mellem Bakteriegrupper, først og fremmest mellem Shiga-Krusebaciller og Pseudodysenteribaciller, men tillige har han undersøgt 100 Stammer »Acidobakterier« (acidobact. lactis, aërogenes, Moroi, Döderleinii, bulgaricum) og aldrig fundet Katalasereaktion: han bruger dette til Differentialdiagnose mod Corynebakterier, »hvis rent morphologiske Adskillelse ofte er vanskelig«; han fremfører, at *Beijerinck* fandt »Gæringsindustriens Mælkesyrefermenter fuldstændig inactive«, og at *Orla-Jensen* senere har paapeget, at Mælkesyrebakterier i Modsætning til andre Microorganismer ikke danner Katalase, hvilket ogsaa betones af *Kluyver*. I hans Arbejde findes saaledes en Række Microorganismer, der morphologisk staar Corynebakterierne nær, og som frembyder et vigtigt Kendemærke som Mælkesyrebakterier.

Nocard skriver om *Nocardia farcinica*, at den vokser i Mælk uden Koagulation og Syredannelse.

Silberschmidt fremhæver, at streptothrix madurae koagulerer Mælk i Modsætning til actinomyces hominis, nocardia farcinica og streptothrix Eppingeri.

Foulerton har fundet Peptonisering af Mælk ved Actinomyceter.

Rodella skriver om sin forgrenede Microb fra Spædbørns fæces, at den koagulerer Mælk under Dannelse af Fedtsyre; der er intet angivet om Bestemmelsen heraf.

Waksman forsøger at anvende Actinomyceternes Forhold overfor Mælk til en Gruppeinddeling paa følgende Grundlag: 1) Koagulerer Mælk hurtigt og peptoniserer det koagulerede hurtigt, 2) koagulerer hurtigt, peptoniserer langsomt, 3) langsom Koagulation, ret hurtig Peptonisering, 4) ingen Koagulation, men Peptonisering, 5) overhovedet ingen Indflydelse. Han gør dog opmærksom paa, at Forskellen er mere kvantitativ end

kvalitativ; strækker Forsøgene sig over lang Tid udslettes Forskellene. I næsten alle hans Mælkeforsøg med *Jordactinomyceter* blev Reaktionen alkalisk, i et Par Tilfælde skiftede den ikke. I intet Tilfælde Syredannelse. Ogsaa *Petruschky*, *Krainsky*, *Goodley* og andre har fundet, at *Actinomyceterne* dels koagulerer Mælk, dels senere gør den alkalisk. *Gilbert's actinomyces thermophilus* koagulerer Mælk langsomt; der er intet angivet om Mælkens Reaktion.

Hos ingen af de anførte Forfattere med Undtagelse af *Chat-terjee* findes der saaledes sikker Angivelse af, at den undersøgte Microorganisme er en Mælkesyrebakterie, og de fleste er endda kommet til det Resultat, at det ikke kan dreje sig om Mælkesyrebakterier.

Blandt de fortræffelige Microfotografier, der ledsager *Orla-Jensen's The lactic acid bacteria*, findes flere Stammer med tydelig Vinkelvækst (*Microbact. lactic*, *microbact. mesenterium*, *microbact. flavum*, *microbact. liquefaciens*) og 2, der viser Forgreninger, nemlig *bact. bifidum* og *bact. acid. propionic*. Dyrket paa Agar i 2 Dage ved 39° minder denne sidste morphologisk meget om de svagere forgrenede Stammer af Gruppe II b. Jeg har fra Landbohøjskolens Mælkerilaboratorium venligst faaet overladt en Kultur heraf og undersøgt den ved Microscopi a. m. *Ørskov* paa Agar, Vandagar og Saccharoseagar, dyrket ved 37° (1 og 2 Døgn), men kunde kun paavise ganske enkelte Tilløb til Forgreninger foruden typisk Vinkelvækst, saa at den morphologisk maatte regnes til *Corynebakterierne* i *Ørskov's System*. De Forgreninger, *Kuntze* omtaler hos *Freudenreich's bac. casei* α & δ (*Betabact-breve et longum* efter *Orla-Jensen*), er efter Microfotografierne ret tvivlsomme, hvorimod *bact. bifidum* sikkert har ægte Forgreninger. Men bortset fra denne — som *Orla-Jensen* endog har Betæneligheder ved at regne for en Mælkesyrebakterie — skal forgrenede Mælkesyrebakterier være ukendte.

Ved Mælkesyrebakterier forstaas Bakterier, som i visse biokemiske Reaktioner stemmer overens, medens de i andre Henseender, f. Eks. med Hensyn til Morphologi og Pathogenitet, kan være vidt forskellige.

I Mælkebakteriologien skelnes sædvanlig mellem ægte og uægte Mælkesyrebakterier. Ved den ægte Mælkesyre-gæring er Mælkesyre Hovedproduktet, ved den uægte Mælkesyre-gæring dannes der en betydelig Mængde flygtige Syrer, Luftarter og andre Biprodukter. I Mælkeribruget har man kun Brug for de ægte Mælkesyregæringer, medens de uægte i Reglen gør Skade.

De ægte Mælkesyrebakterier karakteriseres iøvrigt hovedsagelig ved følgende: De danner i passende Næringssubstrater betydelige Mængder Mælkesyre, som opstaar ved Forgæring af forskellige Kulhydrater og højere Alkoholer. Ingen af dem kan nøjes med en simpelt sammensat Kvælstofnæring som Ammoniumsalte og Aminosyrer, men iøvrigt stiller de forskellige Krav til Kvælstofnæringen. De er grampositive, ubevægelige, udvikler ingen eller kun mindre Mængder af Luft, danner ikke Sporer. De indeholder ikke Katalase, reducerer ikke Nitrater, er indifferente overfor Luftens Ilt.

Undersøgelserne over Actinomyceternes Forhold overfor Mælk foretoges hovedsagelig paa Landbohøjskolens Mælkerilaboratorium, og jeg er Professor *Söncke Knudsen* megen Tak skyldig for Tilladelsen hertil, saavel som for elskværdig ydet Vejledning, hvorfor jeg ogsaa takker Hr. Assistent *A. Sørensen*.

I første Række foretoges en Undersøgelse for Katalasereaktion paa 37 Stammer. Undersøgelsen foretoges ved at hælde nogle cm^3 3 % Brintoverilteopløsning over Bakteriekulturen. Luftudvikling angiver Katalasereaktion.

Af disse 37 Stammer udviklede 18 rigelig Luft, 10 meget ringe og 8 absolut intet. Disse sidste 8 var Stammerne 58, 76, 80, 87, 99, 106, 120, 134. De, der dannede meget ringe Luft, var: 15, 27, 123, 139, 142, 150, 154, 156, 170.

Jeg udvalgte nu 10 Stammer til nærmere Undersøgelse, idet jeg tog Hensyn til saavel Katalasedannelse som Forgæringsgruppe for at faa Repræsentanter med saavel for de tre Hovedgrupper: Syredannere, Alkalidannere og Neutrale som for henholdsvis Katalasepositive og Katalasenegative. Da Udfaldet af Katalaseprøven anses for at være bestemmende for, om en Bakterie er en ægte Mælkesyrebakterie eller ej, kunde de Katalasepositive for saa vidt være udeladt af Forsøget; men det fore-

kom mig alligevel at være af Interesse ogsaa at faa undersøgt, hvorledes disse forholdt sig overfor Mælk.

Stammerne var følgende: 58, 80, 87, 106, 120, 134, 27, 31, 141, 36, og deres Forhold til Forgæringsgruppe og Katalase-reaktion ses af Skemaet:

	Syre- dannere	Alkali- dannere	Neutrale	Katalase
58		+		÷
80	+			÷
87	+			÷
106	+			÷
120	+			÷
134			+	÷
27			+	(+)
31		+		+++
144	+			+++
36			+	+++

Hver Stamme saaedes ud i 2 Glas indeholdende 10 cm³ steril Mælk og 2 Glas med 10 cm³ Gærmælk (d. v. s. Mælk tilsat 100 mg N fra Gærautolysat pr. 100 gram. — Gærautolysat faas ved Selvfordøjelse af almindelig Pressegar ved 2—3 Døgns Henstand ved ca. 50° og efterfølgende Neutralisation og Filtrering.)

Stammerne anbragtes ved 40°. Stamme 87 blev udsaaet i yderligere 2 Glas steril Mælk og 2 Glas Gærmælk og 1 Sæt anbragt ved 22°, et andet ved 30°.

Syredannelsen bestemtes ved Titring med 1/10 n NaOH-Opløsning og Phenolphthalein som Indicator efter henholdsvis 2 Døgn og 8 Døgn. De omtalte Kontrolglas titreredes ligeledes, og deres Titer blev fradraget Forgæringsglassenes.

Efter Fradrag af Kontrolglassets Titer var Syredannelsen følgende:

	Steril Mælk		Gærmælk	
	2 Døgn	8 Døgn	2 Døgn	8 Døgn
58	0	0,9	0	2
80	0,1	0	0	0,8
87	0,8	1,9	1,2	3

	Steril Mælk		Gærmælk	
	2 Døgn	8 Døgn	2 Døgn	8 Døgn
106	1,2	3	2,7	4,9
120	0,6	2,3	0,8	2,5
134	0	0	0,1	0
27	÷ 0,1	0	0	0,4
31	0	0	0	0,5
144	0,2	0	0	0
36	0,2	0	0,7	1,8

Tallene angiver cm^3 1/10 n. NaOH. pr. 10 cm^3 af Substratet.

I Modsætning til hvad de fleste Forfattere synes at have fundet, foregaar altsaa disse Actinomyceters Vækst i Mælk under Syredannelse.

Koagulation af Mælken indtraf kun for Stamme 106's Vedkommende i 8 Døgn Kulturen, saavel i steril Mælk som Gærmælk med Udskillelse af ubetydelig Valle og aromatisk Lugt. I Gærmælk 8 Døgn peptoniserede Stamme 36 med stærkere Vallendiskillelse og skarp Lugt.

De tre Katalasenegative Stammer, der har udviklet større Mængde Syre: 87, 106 og 120 tilhører alle den syredannende Gruppe. Af de for Katalasereaktion undersøgte 37 Stammer tilhørte 9 de alkalidannende, 8 de Neutrale og 20 Syredannerne; de fleste af disse sidste var dog ret svagt syredannende, idet som tidligere omtalt de stærke Syredannere er meget vanskelige at holde i Live, saa de fleste Kulturer allerede var uddøde.

Efter at det nu var fastslaaet, at de omtalte 3 Stammer var ægte Mælkesyrebakterier, var det af Interesse at bestemme, hvor disse Bakterier hørte hjemme i *Orla-Jensen's* bekendte System over Mælkesyrebakterier. For at afgøre dette var det nødvendigt dels at bestemme, hvilken Mælkesyre der dannedes ved Bakteriernes Vækst, og dels om der dannedes rigeligere Mængde Bi-produkter.

Til Undersøgelsen anvendtes Stamme 106. Undersøgelsen foretoges med den hertil sædvanlig paa Landbohøjskolens Mælkelaboratorium anvendte Teknik: Act. 196 udsaaes i 500 cm^3 halvflydende Agar med 5 % Glukose og 6 % CaCO_3 . Henstilles i

Thermostat ved 37° i 8 Dage. Til 200 cm^3 af Kulturen sættes lidt koncentreret H_2SO_4 . Der inddampes paa Vandbad til Sirupskonsistens, tilsættes Sand og udtrækkes med Æther under Udrivning med en Pistil. Efter Filtrering afdampes Ætheren ved Henstand i en Skaal ved Stuetemperatur. Remanensen opløses i lidt varmt Vand, der tilsættes Zinkilte og Blodkul og opvarmes en kort Tid paa Vandbad. Derpaa filtreres varmt og Filtratet henstilles til Udkrystallisation af Zinklaktatet. Det udkrystalliserede Salt filtreres fra, presses mellem nogle Stykker Filtrerpapir og henlægges nogle Dage ved Stuetemperatur til Tørring. En passende Mængde af Saltet afvejes i en lille udglødet og vejet Porcelænsdigel. Ved Vejning den følgende Dag sikrer man sig, at Saltet har været lufttørt, og derefter tørres det i 2 Timer ved 140° — 160° , hvorved det mister Krystalvandet, hvis Mængde bestemmes ved Vejning. De aktive Zinklaktater har 12,9 % Vand, de inactive 18,2 %. No. 106 viste følgende Forhold:

Digel vejet	15,1940	I Arbejde: 0,9508 gram.
+ Stof	16,1437	
1. Døgn	16,1442	% Krystalvand = $\frac{0,1718 \times 100}{0,9508} = 18,16$
2. Døgn	16,1448	
Tørring	15,9730	
Svind	0,1718.	

Tilbage i Kolben 0,78 gram, opløses vanskeligt i Vand (c. 2 %), tilsættes derfor 39 cm^3 Vand (varmes), polariseres. Ved Polarisation ingen Drejning af Lysets Plan.

Til Bestemmelse af flygtige Syrer anvendtes 200 cm^3 steril Mælk, hvori Act. 106 havde vokset i 8 Dage ved 40° . Til Sammenligning undersøgtes Streptococ. cremoris, der kun danner ringe Mængde Biprodukter. Til 200 cm^3 Mælk sættes 5 gram Na_2SO_4 + 15 cm^3 1 norm. H_2SO_4 (til Frigørelse af de flygtige Syrer). Der afdestilleres 1000 cm^3 , som titreres med $1/10\text{ n}$ NaOH med Phenophtalein som Indicator.

	$\text{cm}^3\ 1/10\text{ n NaOH}$
Streptoc. cremoris	5,3
Actinomyce. 106	10

Ved Titrering af hver af de paagældende Mælkekulturer med Phenolphthalin som Indicator fandtes i 10 cm³.

	cm ³ 1/10 n NaOH
Streptococ. cremoris.	10,2
Act. 106	4,6

Efter ovenstaaende Undersøgelse danner Stamme 106 optisk inaktiv Mælkesyre og kun ringe Mængde Biprodukter. Den nærmer sig mest Gruppen Thermobakterier i *Orla-Jensen's* System, nemlig i følgende Egenskaber: Stavform, ingen Katalasereaktion, venstredrejende — eller optisk inaktiv Mælkesyre, kun ringe Mængde Biprodukter, men adskiller sig fra dem ved at forgære Pentoser. I denne Gruppe findes iøvrigt ingen forgrenede Bakterier, hvilket dog har mindre Betydning, da Systemet bygger paa en biochemisk Inddeling, men da heller ikke den biochemiske Overensstemmelse var fuldstændig, henvendte jeg mig til Professor *Orla-Jensen*, der af Interesse for Spørgsmaalet elskværdigst paatog sig at foretage en Undersøgelse over 2 af Stammerne, hvortil udvalgte Stammerne 87 og 106. Begge fandtes katalasenegative og indolnegative. Løber ikke Mælk. (I mit eget Forsøg koaguleredes Mælken af Stamme 106, men den dannede Syremængde er lige paa Grænsen af det fornødne til at fremkalde Koagulation; det er derfor naturligt, at den i nogle Tilfælde vil koagulere Mælken, i andre ikke).

Der er af Dyrlæge *O. Winther* foretaget en Undersøgelse over Forgæinger af følgende Sukkerarter: Aesculin, Glycerin, Xylose, Arabinose, Rhamnose, Sorbit, Mannit, Lævulose, Glukose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Laktose, Raffinose, Inulin, Dextrin, Stivelse og Salicin i Kaseinpeptonbouillon med 25 % Gærautolysat (0,5 % N), et Substrat, der antagelig er endnu bedre egnet end Extraktbouillon, i alle Tilfælde forgæres der ved denne Undersøgelse af Stamme 87 flere Sukkerarter, der ikke forgæredes ved min Undersøgelse, nemlig Sorbit, Mannit og Laktose. 106 har jeg undersøgt i 2 % Wittepeptonopløsning som kvælstofholdigt Substrat, og det er derfor naturligt, at den ved Undersøgelse i det oven omtalte rigere

Substrat har vist sig at forgære flere Sukkerarter end ved min Undersøgelse, nemlig Rhamnose, Sorbit, Mannit, Laktose, Dextrin, Inulin, Stivelse og Salicin, derimod er det ejendommeligt, at den i mit Forsøg forgærer Xylose, medens den ikke gør det i *Winther's*.

Forgæringsskemaet er følgende:

Nr.	N Kilde	Aesculin	Glycerin	Xylose	Arabinose	Rhamnose	Sorbit	Mannit	Lævulose	Glukose	Mannose	Galaktose	Saccharose	Maltose	Laktose	Raffinose	Inulin	Dextrin	Stivelse	Salicin	Mælk
87	C+y*	2,0	2,3	0,7	0,9	1,1	0,5	0,9	3,8	3,4	2,9	2,9	3,8	3,4	1,8	4,1	3,8	2,3	2,5	2,3	1,8
106	„	0,0	1,4	0	0,9	1,4	0,9	0,9	2,3	3,2	1,4	2,7	2,9	3,4	2,7	0,9	0,9	2,3	2,0	0,9	2,9

*Kaseinpeptonbouillon med 25 % Gærautolysat 0,5 % N.

sign. *O. Winther*

Der er foretaget en videre Undersøgelse af act. 87, medens jeg som omtalt har undersøgt 106. Resultatet for 87 er følgende:

Substrat: Kaseinbouillon med 25 % Gæreextrakt og 4,7 % Druesukker.

forgæret 1,56 %, 33,2 % af Sukkermængden, heraf dannet Eddikesyre 10,9 % af Sukkermængden; isoleret c. 4 % (af Sukkermængden) af Venstremælkesyre Zinksalt $\left\{ \begin{array}{l} \text{Vand } 10,35 \\ \alpha \text{ D } + 5 \end{array} \right.$

Bakterien danner ogsaa Acetylmetylcarbinol (0,030 % Oxim)
(sign. *Anna D. Orla-Jensen*).

Efter denne Undersøgelse mener *Orla-Jensen*, at dersom de undersøgte Bakterier har nogen Tilknytning til Mælkesyrebakterierne, er det nærmest til *bact. bifidum*, der ogsaa danner store Mængder Eddikesyre ved Siden af Mælkesyre, der dog er højredrejende.

Stamme 87 viste sig altsaa ved den nærmere Undersøgelse at være forskellig fra Stamme 106, idet den hovedsagelig danner Eddikesyre ved Nedbrydning af Sukkeret, og den dannede Mælkesyre er Venstremælkesyre, medens 106 hovedsagelig danner

Mælkesyre og kun ringe Mængde Biprodukter, og Mælkesyren er optisk inactiv.

Disse 2 undersøgte Actinomyceter, der opfylder de almindelige Betingelser for at tilhøre Kategorien Mælkesyrebakterier, viser sig altsaa ved dyberegaaende Undersøgelse at frembyde en Del Forskelligheder, tillige viser det sig, at ingen af dem kan finde Optagelse i nogen af de bestaaende Grupper i Orla-Jensen's System, selv om 106 i flere Henseender slutter sig til Gruppen Thermobacterium og 87 til bact. bifid. Fælles for dem er foruden de almindelige Karakteristika som Mælkesyrebakterier deres Morfologi, og jeg kunde derfor tænke mig, at de sammenfattes under Navnet *Lactomyceter*.

AÆROB OG ANAÆROB VÆKST

En meget hyppig anvendt Inddeling af Actinomyceter er Inddelingen i ærobe og anaærobe, og der har gennem Aarene staaet Strid om, hvorvidt Actinomycosen skyldtes den ene eller den anden af disse Actinomyceter. Det er tillige en meget iøjnefaldende Egenskab, og der findes derfor ogsaa i Meddelelser om Actinomyceter altid oplyst, om det drejer sig om en ærob eller anaërob Microorganisme. Mange Gange findes Angivelse af, at Actinomyceten voksede under saavel ærobe som anaærobe Betingelser, men dog i Reglen bedst under den ene af dem, saaledes angiver *Wolff* og *Israel*, at den af dem fundne Actinomycet ikke er streng anaërob, men ogsaa kan vokse i de ærobe Kulturer.

At en ved Isoleringen anaërob Straalesvamp efterhaanden har kunnet vænnes til at vokse under ærobe Betingelser, hævdes af flere Forfattere (*Bujwid*, *Gasperini*, *Mertens*, *Klinger* og *Lieske*). *Levy* har i 1899 forsøgt at faa en ærob Actinomycet til at vokse anaërobt, idet han har ladet den dyrke gennem længere Tid under Udelukkelse af Ilt; den har kunnet vokse saaledes, men stedse daarligere end ærobt; han anser dog ikke selv Spørgsmaalet for udtømt hermed.

Näslund har fra Mundhulen isoleret en stor Række Actinomyceter, som han af praktiske Grunde deler i ærobe, anaærobe og samtidig ærobe og anaærobe; men han anser ikke sin Inddeling for at være en ægte Inddeling; de ærobe benævnes Gruppe A, de anaærobe Gruppe B, medens Gruppe C omfatter dem, der vokser saavel ærobt som anaërobt. Han mener, at Gruppe B og C hører til den normale Mundflora, medens Gruppe A er tilfældige Gæster.

Teknikken ved den anaærobe Dyrkning er kun sjælden an-

givet; i de ældre Arbejder har det oftest drejet sig om en Iagttagelse af Kulturer i Bouillon, hvor Bakterierne først kun har kunnet vokse paa Bunden, men senere ogsaa har vist Overfladevækst.

Lieske har undersøgt sin anaërobe Svamp i Gelatine- og Agarrør, hvor den i Begyndelsen kun kunde vokse indtil 1 ctm under Overfladen, men efterhaanden nærmede sig denne mere og mere, og tilsidst naaede den helt.

Harbitz og *Grøndahl* undersøger dels efter *Liborius'* Metode; Dyrkning i højt Agarlag, der paa Forhaand er godt udkogt. Til Overfladevækst anvendes *Buchner's* Metode, hvor Ilten fjernes med Kaliumhydroxyd og Pyrogallol.

Til Undersøgelse af hvordan mine aërobe Stammer voksede under andre atmosfæriske Betingelser, har jeg dels anvendt 10 vol % Kulsyre-atmosfære + 90 % atmosfærisk Luft, dels ren Brintatmosfære.

Der undersøgtes 70 Stammer paa følgende Maade: hver Stamme saaedes ud paa 3 Plader (Kartoffelbouillonagar). Den ene Plade dyrkedes aërobt, Nr. 2 i Kulsyre-atmosfære, idet jeg her gik frem efter *Huddleson's* Metode. Dyrkningen sker i høje, veltillukkede Cylinderglas, og Kulsyren udvikles ved at lade Indholdet af et Glas med 2 cm³ 1 molær H₂SO₄ pr. Liter Lufterum flyde ned i en større Mængde NaHCO₃. Det 3. Sæt Plader anbragtes ligeledes i et Cylinderglas, hvortil ledeses Brint, indtil al atmosfærisk Luft var uddrevet, hvorefter Beholderen aflukkedes. Pladerne henstod ved 37° og undersøgtes dernæst.

Væksten er inddelt i 4 Grupper: udmærket, god, svag og daarlig; sammenfatter man de to første Grupper under eet som god Vækst, og de to sidste som daarlig Vækst, vokser i atmosfærisk Luft 63 % godt, 37 % daarligt; i Kulsyre-atmosfære vokser 69 % godt, 31 % daarligt og i Brintatmosfære 57 % godt, 43 % daarligt.

Væksten synes saaledes snarest at være lidt bedre i Kulsyre-atmosfære, men Forskellen er dog lille og kan skyldes Tilfældigheder.

Blandt de Stammer, der vokser bedst aërobt, findes relativt mange Alkalistammer og Neutrale (41 %), blandt de, der vok-

ser bedre anaërobt, er Alkali- og Neutralstammerne kun repræsenteret ved 21 %.

Undersøgelsen viser saaledes, at Stammerne taget som et Hele har Evnen til at vokse omtrent lige godt under aërobe og anaërobe Betingelser, ja, at de endda synes at vokse bedre i en 10 % Kulsyre-atmosfære end i Iltatmosfære, men noget svagere i Brintatmosfære. Nogen Tilvænning har ikke været nødvendig.

Endvidere synes Syregruppen at være mest tilbøjelig til anaërob Vækst.

GRAMFARVELIGHED OG SYREFASTHED

Langt de fleste Straalesvampe er grampositive. Ved Gennemgang af Litteraturen er det kun lykkedes mig at finde tre Meddelelser om forgrenede, gramnegative Microorganismer.

Schürmann har undersøgt 5 streptothrixstammer og angiver, at kun de to var grampositive. *Francis Blake* har beskrevet en forgrenet, gramnegativ Microorganisme som den ætiologiske Faktor ved et Tilfælde af rat-bite-fever, og *Tunnickliff* og *Mayer* har ligeledes ved et Tilfælde af rat-bite-fever fundet en forgrenet, gramnegativ Microorganisme. Efter Beskrivelsen kan det i de to sidste Tilfælde dreje sig om en Actinomyces af Gruppe II b.

Flere Tilfælde har jeg ikke kunnet finde i Litteraturen, og man maa derfor samstemme med *Lieske*, naar han skriver: »Die Gramfärbbarkeit ist ein wesentlicher Merkmal der Strahlenpilze«, hvorimod Fortsættelsen »Gramnegative Organismen können niemals zu den Strahlenpilzen gezählt werden« næppe kan siges at være helt berettiget. *Lieske* har forøvrigt selv iagttaget, at enkelte thermofile Stammer ved Kultur over 50° kunde være gramnegative.

Nocard angiver i sin Meddelelse om nocard. farcinic., at denne er gramnegativ med Alkoholafarvning, men grampositiv med Anilinaffarvning. *Feistmantel*, der har underkastet den en større Undersøgelse, har imidlertid fundet den grampositiv og saa med Alkoholaffarvning, og det samme Resultat er senere Undersøgere kommet til.

Min Teknik ved Undersøgelsen har været følgende: Efter Udstrykning og Flammefixering farves med Karbolmethylviolet et Minut; Farven afhældes, der paahældes Jod-Jodkaliumopløsning (Jod 1 Jod. Kal 2. Aq. 300), denne afhældes og ny Portion

Jod-Jodkaliumopløsning paahældes, ialt et Minuts Jodbehandling. Joden afhældes, hurtig Afskylning med Alkohol, indtil der ikke mere afgaar Farve; Efterfarvning i et Minut med 10 % Karbolfuchsin.

Med denne Teknik viste alle mine Stammer sig grampositive.

Hvad Syrefastheden angaar, er denne mere omstridt, og det er ogsaa meget forskelligt, hvad der af de forskellige Forfattere regnes for Syrefasthed; nogle Forfattere anvender indtil 25 % H_2SO_4 med efterfølgende Alkoholbehandling, andre nøjes med 5 % H_2SO_4 uden Alkoholaffarvning.

Nøjere Angivelse af Teknik findes langtfrå i alle Arbejder, ofte er der kun angivet, at den paagældende Svamp er syrefast eller ikke syrefast, eller eventuelt, at den er syrefast, men ikke syre-alkoholfast; mange angiver dog Teknik, og enkelte har gjort større Undersøgelser over Syrefastheden med forskellig Teknik, f. Eks. *Fuchs*, der har undersøgt 14 Streptothrixarter for Syrefasthed med 5 forskellige Metoder: *Ziehl-Neelsen's*: Opvarmning med Karbolfuchsin, Afkøling, Aftørring, enkelt Neddykning i 25 % H_2SO_4 , 80 % Alkohol saalænge Farve afgaar (mindst 5 Minutter), Vandafskylning, Methylenblaat. 2) *Müller's*: Farvning som foranstaaende, Affarvning med frisk Brintoverilteopløsning i 30 Minutter. 3) som foregaaende, kun affarves der i 15 Minutter med frisk 5 % vandig Opløsning af Kaliumperkarbonat. 4) *Kühne's* Metode: 15 Minutter i kold Karbolfuchsin, Affarvning 30—35 Sekunder i 2 % vandig saltsur Anilin. Vandafskylning, Affarvning med 80 % Alkohol. Methylenblaat. *Dorsett's* Metode: Koncentreret Opløsning af Sudan III i 80 % Alkohol i 10 Minutter, Affarvning med 70 % Alkohol. Methylenblaat.

Efter *Dorsett's* Metode affarvedes alle, med de andre farvedes 10, een var usikker, 3 negative.

Th. Cohn affarver med 5 % H_2SO_4 og 70 % Alkohol, og finder herved manglende Syrefasthed hos sin Actinomycet.

Näslund undersøger ved 4 Minutter i hed Karbolfuchsin, 3 Minutters Affarvning med 5 % H_2SO_4 , og finder ingen syrefaste; i et andet Arbejde anvender han 5 % H_2SO_4 i eet Minut og finder Actinomyceterne i vekslende Grad syrefaste.

Stoltz finder sin forgrenede Bacil delvis syrefast ved Affarvning 5—10 Sekunder i 20 % Saltsyre eller Salpetersyre eller i Alkohol abs. $\frac{1}{2}$ Time.

Fcistmantel affarver i 5 % H_2SO_4 og derefter 10—15 Minutter 70 % Alkohol og finder herved nocardia farcinic. syrefast for de lange Traades Vedkommende, medens Stav- og Kokformene ikke er syrefaste.

Birt og *Leishmann* affarver med 25 % H_2SO_4 og finder en syrefast Actinomycet, der er intet angivet om Alkoholaffarvning.

Henrici og *Gardeners* actinomyc. gypsoides var syrefast (Teknik ikke angivet), men affarvedes naar der anvendtes 5 % Saltsyre-Alkohol i eet Minut eller derover.

Sanfelice anvender enten Karbolfuchsin og derefter 10 Minutter 3 % Saltsyre-Alkohol og Kontrastfarvning med Methylenblaat, eller først Affedtning af Præparatet med absolut Alkohol, saa et Par Minutter Chromsyre (5 %), Vandafvaskning og Farvning i Karbolfuchsin; Affarvning enten 3 Minutter fortyndet H_2SO_4 (16 %) eller 1—2 Minutter ren Salpetersyre. Kontrastfarve: Methylenblaat. Herved viser hans Stammer sig syrefaste.

Lieske anvender Affarvning med 1 % Saltsyrealkohol eller 5 % H_2SO_4 , og finder ved denne Metode 7 syrefaste Stammer.

Efter Litteraturen findes der saaledes enkelte Actinomycter, der kan taale Behandling med større Koncentrationer af H_2SO_4 og paafølgende Alkoholbehandling uden at affarves, og nogle der taaler Affarvning med svagere Koncentrationer af Mineralsyrer, dels med, dels uden paafølgende Alkoholbehandling, men de fleste angives ikke at være syrefaste.

Jeg har undersøgt mine Stammer med forskellige Svovlsyrekoncentrationer, nemlig 25 %, 5 % og 1 % (alle Procenterne er Rumfangsprocenter) Teknikken har iøvrigt været den samme, nemlig den, der paa Seruminstitutet anvendes ved Tuberkelbaccilfarvningen: Lufttørring, Flammefixering, varm Karbolfuchsin 2 Minutter, 25 % H_2SO_4 mindst 3 Minutter, rigelig Vandskylning, 96 % Alkohol mindst et Minut, Efterfarvning: 1 % vandig Pikrinsyreopløsning $\frac{1}{2}$ Minut.

Med 25 Rf % H_2SO_4 affarvedes alle Stammer, med 5 % var

6 syrefaste, hvoraf 2 Alkalistammer, 2 af Neutralgruppe I og 2 af Neutralgruppe II; ingen Syrestammer. Ved Affarvning med 1 % H_2SO_4 var 27 syrefaste, deraf 11 Syrestammer, 8 Alkalistammer, 5 Gruppe N^I og 3 Gruppe N^{II}.

Udtrykt som Procent af det samlede Antal af Stammer fra den paagældende Gruppe, stiller Forholdene sig saaledes: Syrefaste ved Affarvning med:

	5 0/0 H_2SO_4	1 0/0 H_2SO_4
N ^{II}	50 %	75 %
N ^I	22 %	55 %
A	16 %	66 %
S	0 %	26 %

I Syregruppen findes de mindst syrefaste Stammer, og i Gruppe N^{II} er Syrefastheden størst.

INDOLDANNELSE

Det er tvivlsomt, om *Actinomyceter* i det Hele taget kan danne Indol. I Litteraturen har jeg kun kunnet finde faa Undersøgelser herover (*Krause, Fennel*), og de undersøgte Stammer dannede ikke Indol.

Heller ikke nogen af de af mig undersøgte Straalesvampe har vist Spor af Indoldannelse.

Undersøgelsen er foretaget efter *Ehrlich-Böhme's* Metode ved Udsæd af Stammen i Indolbouillon (5 Liter Kaseintrypton alkaliseret til pH = 7,7, hertil 10 Liter Postevand). Naar Stammen har vokset heri nogen Tid, hældes saa meget »Indolreagens« (Paradimethylamidobenzaldehyd 10 gram, 96 % Alkohol 950 ccm, ren koncentreret Saltsyre 200 ccm) forsigtig langs Glassets Side, saa den lægger sig paa Overfladen af Bouillonon i et en etm højt Lag; er der Indol til Stede, dannes en rød Ring paa Grænsefladen.

Hver af de første 20 Stammer blev udsaaet i 10 Indolbouillonglas, og der undersøgtes daglig et Glas; da disse ikke viste positiv Reaktion, nøjedes jeg derefter med 4 Glas for hver Stamme, og der undersøgtes anden, fjerde, ottende og femtende Dag ligeledes med negativt Resultat.

Egenbevægelser.

I Litteraturen findes Ubevægelighed undertiden anført som et af de almene Kendetegn paa *Actinomyceter* (*H. L. Jensen, Buchanan, Topley og Wilson*), kun ganske enkelte angiver at have iagttaget Egenbevægelser, saaledes *Rullmann*, hvis patogene streptothrix skal have vist livlige Egenbevægelser, og *Eppinger*, der fandt, at de smaa Elementer af *cladothrix asteroides* kunde bevæge sig spontant.

Det bedst undersøgte Tilfælde er sikkert *Friedenreichs* og *Ørskov's* Undersøgelser over en vinkelvoksende Bakterie forsynet med smaa Forgreninger, der af *Friedenreich* var isoleret som Aarsag til T-Agglutinationen.

Den tilhørte de coryneforme Bakterier, der morfologisk slutter sig nærmest til Actinomyceterne af Gruppe II b, og den viste sig ved Dyrkning ved 20° at optræde i en bevægelig Form, medens den dyrket ved 37° var ubevægelig; det blev paavist, at de bevægelige Led var forsynede med et flagellum ved den ene Pol.

Det er paafaldende, at af disse tre bevægelige forgrenede Microorganismer er den ene — *Rullmann's* — en Actinomyceet af Gruppe II b, medens de to andre tilhører de to nærmest beslægtede Grupper, *Eppinger's* Gruppe II a, og *Friedenreich's* de coryneforme Bakterier. Jeg har undersøgt for Bevægelighed ved at anbringe en Draabe Vand paa Overfladekultur, men blandt mine Stammer har jeg ikke i noget Tilfælde iagttaget Egenbevægelser.

Gelatinesmeltning.

Actinomyceternes Evne til Gelatinesmeltning hører vel ikke til de bedst undersøgte Egenskaber, men der findes dog en Række Meddelelser herom.

De fleste Meddelelser drejer sig — som Reglen er for Actinomyceter — om enkelte isolerede Tilfælde, og det fremgaar heraf, at der findes saavel gelatinesmeltende Actinomyceter (*Gilbert, Näslund* og *Dernby, Henrici* og *Gardener, Waksman, Lieske, Leyton* og *Leyton* o. a.) som ikke gelatinesmeltende (*Fennel, Henrici, Gjorgjevic, Lieske, Silberschmidt* o. a.).

Som Inddelingsgrundlag synes Gelatinesmeltningen kun at være anvendt af *H. L. Jensen*, der skriver, at *Ørskov's* Gruppe I (Cohnistreptothrix) adskiller sig biologisk fra Gruppe II (Actinomyces) ved at kunne smelte Gelatine, videre skriver han, at Gruppe II ikke kan forgære Stivelse, men mange af Gruppen kan udnytte Paraffin; det maa bemærkes, at *H. L. Jensen* kun har foretaget Undersøgelser over Jordactinomyceter.

Foulerton deler sine Actinomyceter i flere Grupper, men finder

i hver Gruppe i alt Fald nogle gelatinesmeltende Stammer.

Henrici skriver i »molds, yeasts and actinomycetes« at Gelatine smeltes af de fleste Actinomyceter, medens *Topley* og *Wilson* angiver, at aërobe Actinomyceter mangler proteolytisk Evne.

Mine Undersøgelser er foretaget ved Stikkultur i 10 % Gelatine, der fremstilles ved at opløse Gelatine i Kødextraktbouillon (1 % Kødextrakt, 1 % Wittepepton), der er opvarmet til 50—60°. Efter Kogning alkaliseres Substratet med NaOH til pH = 7,5 og afkøles til 50° eller derunder; let pisket Æggehvite tilsættes (1 Hvide til 2—3 Liter Substrat). Efter omhyggelig Blanding koches Substratet ½ Time, Reaktionen prøves; hvis det er nødvendigt, tilføjes yderligere NaOH til pH = 7,5; dernæst aftappes i Reagensglas, og disse koches 3 Gange 15—20 Minutter. Glassene lukkes med paraffineret Vatprop.

Undersøgelsen foretoges i Thermostat ved 22°, og jeg undersøgte de Stammer, der kunde vokse godt ved denne Temperatur; det drejede sig om følgende:

Syrestammer: 54, 80, 152.

Alkalistammer: 17, 31, 58, 66.

Neutrale Gruppe I: 21, 29, 44.

» » II: 6, 15.

Stammerne 80 og 44 smeltede Gelatinen paa 2 Dage, Stamme 66 paa 5 Dage, de andre Stammer viste ingen Gelatinesmeltning.

Gelatinesmeltning synes saaledes ikke at være nogen karakteristisk Egenskab for disse Actinomyceter, den kan findes hos enkelte af dem, men er ikke knyttet til nogen bestemt Gruppe.

KAPSELDANNELSE

Det er sikkert en overordentlig sjælden Foreteelse, at en Straalesvamp danner Kapsler. Jeg har ikke i Litteraturen om Straalesvampe truffet nogen anden Meddelelse herom end en af *Ørskov* i 1920 offentliggjort Meddelelse om en forgrenet Bakterie, isoleret fra en Phtisikers sputum. Den dannede Kapsler paa alle Substrater særlig paa Løffler Serum.

I mit Materiale findes der kun een kapseldannende Stamme, og jeg har i 1931 offentliggjort en Meddelelse herom (C.f.B. I Orig. 1931, Bd. 120, S. 113).

Det drejer sig om Stamme 31, der under visse Betingelser viser sig at danne Kapsler, idet dens lange forgrenede og vinkelformet voksende ikke kapsulate Stave omdannes til ganske korte, stadig vinkelformet anordnede Stave, omgivet af Kapsler af betydelig Størrelse.

Udsaas disse kapselbærende Elementer, vokser de igen ud til kapselfrie Mycelier og vinkelvoksende Stave, og Kredsløbet gentager sig.

Mikroskopisk viser den ikke kapselforsynede Fase sig som lange vinkelvoksende Stave og et Fletværk af temmelig grove, forgrenede Traade (Fig. I), medens den kapselbærende Varietet bestaar af ganske smaa, stavformede Elementer, ordnede to og to i Vinkel med hinanden, og med en regelmæssig indbyrdes Afstand, som viser, at det drejer sig om ægte Kapseldannelse (Fig. II).

Makroskopisk viser Overgangen fra den kapselfri til den kapselforsynede Fase sig ved Dannelsen af en slimlignende Masse i Midten af den tidligere nærmest tørre, gullige Koloni; denne Masse tiltager efterhaanden stærkt, flyder ud over Ko-

lonien og kan brede sig saa meget, at den driver ned ad Agar-skaalens Sider.

At det drejer sig om Kapseldannelse og ikke som f. Eks. hos *Paratyfus B* Bacillen om en ekstracellulær Slimdannelse, kan



Fig. I.

foruden ved Mikroskopi som omtalt ovenfor vises ved Hjælp af *Burris* Tuschmetode og den metachromatiske Kapselfarvning.

Den første og vigtigste af de Faktorer, hvoraf Kapseldannelsen afhænger, er Temperaturen. Saalænge Stammen dyrkes ved 37°, indtræder der ingen Kapseldannelse, men anbringer man



Fig. II.

den ved Stuetemperatur, vil man paa 3—5 Dage se, at der i den centrale Del af Kolonierne begynder at dannes en slimlignende Masse, der efterhaanden breder sig, og som mikroskopisk bestaar af de omtalte smaa kapsulate Elementer; medens det oprindelige Mycel paa dette Tidspunkt endnu kan ses liggende under den gelélignende Kuppel.

Paa Plader, der dyrkes ved Stuetemperatur uden forudgaa-

ende Thermostatophold, gør det samme Fænomen sig gældende.

En anden Faktor er Næringssubstratets Sammensætning; i Bouillon sker der ingen Kapseldannelse, hvorimod den finder Sted paa Kartoffelbouillonagar og Vandagar, i halvflydende Agar, paa Blodagar, og Bordet-Gengous Kighostebacils substrat.

Er Pladerne for tæt tilsaaede, finder der ingen Kapseldannelse Sted, sandsynligvis fordi Vækstbetingelserne for hurtig udtømmes. Derimod er det ikke ubetinget nødvendigt, at Kolonierne skal være enkeltstaaende, da der ogsaa kan dannes Kapselbakterierne i sammenflydende, stribeformede Kulturer.

Luftens Fugtighedsgrad synes ikke at spille nogen væsentlig Rolle, idet man ved Dyrkning i fugtigt Kammer i Thermostat ikke opnaaede Kapseldannelse.

Heller ikke Pladens Tørhedsgrad spiller nogen Rolle i denne Sammenhæng; det undersøgte ved Udsæd paa stærkt tørrede Plader (5 Timer aaben i Thermostat). Væksten var mere sparsom end paa almindelig tørrede Plader, men Kapseldannelsen var forholdsvis ligesaa stor.

Jeg undersøgte ogsaa, om Bakteriernes Stofskifteprodukter havde nogen Indflydelse paa Processen. Undersøgelsen skete ved til Fremstilling af Kartoffelbouillonagarpladerne at anvende Bouillon, hvori Bakterierne havde vokset 2 Dage ved 37° og 5 Dage ved Stuetemperatur, hvorefter Boullonen blev filtreret gennem Chamberlandfilter. Kapseldannelsen foregik nøjagtig som paa almindelige Kartoffelbouillonagarplader. Heller ikke Udsæd af Kapselementer paa tidligere tilsaaede Plader, hvor Kapseldannelsen allerede gennem længere Tid havde fundet Sted, havde nogensomhelst Indflydelse paa Kapseldannelsen.

Morsom er den store Farvevekslen i de kapsulate Elementers Kolonier, hidrørende fra Næringssubstrat, et Forhold man ellers ikke træffer hos disse Microorganismer, hvis Kolonier egentlig kun skifter Farve paa Blodagar, hvor de bliver olivengrønne. Den her omtalte Stammes kapsulate Kolonier var paa Vandagar næsten graa, paa Kartoffelbouillonagar gullige med rødtligt Skær, paa Blodagar graabrune og paa Kighostebacils substrat blodrøde.

Stammen er en typisk Alkalidanner.

HÆMOLYSE

Undersøgelsen af en Bakteries hæmolyserende Evne har tidligere spillet en stor Rolle og anvendtes dels som Differential-diagnosticum, dels mente man deraf at kunne drage Slutninger om Pathogeniteten. Efter at det har vist sig, at der næppe er nogen saadan Sammenhæng, har Undersøgelsen for en stor Del mistet sin Betydning, saa meget mere, som det synes at være en Evne, der saavel kan erhverves som mistes og altsaa ikke nogen karakteristisk Egenskab.

Man kan undersøge for Hæmolysindannelse saavel paa fast Substrat, som i flydende, almindeligst er Undersøgelsen paa fast Substrat, som ogsaa er anvendt i mine Forsøg; *Sachs* og *Klopstock* skelner ved denne Undersøgelse mellem Hæmoglobinopepsi og Hæmopepsi; i det første Tilfælde nedbrydes Hæmoglobinet, medens stromata forbliver uskadte, i det andet Tilfælde fordøjes ogsaa stromata.

Undertiden dannes der om Bakteriekolonien en grønlig Zone, der efter *Kovács* og *Krafft* skal skyldes, at Bakterierne forgærer de i normal Blodagar tilstedeværende Kulhydrater, og den derved opstaaede Kulsyre danner Methæmoglobin med den tilstedeværende Hæmoglobin.

Waksman har i nogle af sine Hæmolyseringsforsøg med *Actinomyces* iagttaget, at nogle Stammer dannede et brunt Pigment; dette, skriver han, kan kun faas af Hæmoglobin, naar det ved Ophedning, Behandling med Syrer eller Alkalier eller forskellige Enzymer omdannes til Hæmatin, og det er derfor muligt, at Dannelsen af det brune Pigment skyldes Enzymer, der forvandler Hæmoglobin til Hæmatin og beslægtede mørkbrune Bestanddele, og at den klare hæmolyserende Zone skyldes Enzymer, der fuldstændig sønderdeler Hæmoglobinmolekylet og frigør eller optager Jernet.

Det er iøvrig ikke mange Undersøgelser over Actinomyceters Hæmolyseringsevne, der findes i Litteraturen.

Waksman forsøger i det ovenfor nævnte Arbejde uden Held at anvende Hæmolyseringsevnen til Gruppeinddeling; han har undersøgt 19 Stammer.

Fennel har ingen Hæmolyse fundet for streptothrix interproximalis. *Chiarolanza* heller ikke for 2 af ham undersøgte Stammer. *Baron* og *Patay's* patogene Streptothrix viste ægte circumskript Hæmolyse. *Lieske* undersøger en Række Stammer, dels paa fast Substrat, dels i flydende, og gør den Iagttagelse, at medens talrige Stammer hæmolyserer kraftigt og hurtigt paa fast Substrat, finder der kun i enkelte Tilfælde en Hæmolyse Sted i flydende Substrat, og den er endda yderst ringe. Det lykkedes ham imidlertid ved Extraktion af Kulturer paa fast Substrat at faa en Opslemning, der ogsaa hæmolyserede kraftigt i flydende Substrat; det viste sig, at dette hæmolyserende Extrakt var meget thermostabilt, hvorefter *Lieske* sluttede, at det ikke kan dreje sig om noget Enzym. Han mener, at Hæmolysen er en tilfældig Faktor, forårsaget af de normale Stofskifteprodukter.

Mine egne Undersøgelser omfatter 99 Stammer, der som omtalt er undersøgt paa fast Substrat, de almindelig paa Serum-institutet anvendte Blodagarplader, der fremstilles ved Blanding af Agar med defibrineret Hesteblood i Forholdet 10 Dele Agar til 1 Del Blood.

Undersøgelserne er foretagne dels paa Bloodplader i den almindelige Tykkelse paa ca. $\frac{1}{2}$ cm, dels paa ganske tynde Bloodplader, og fra hver Stamme er der anlagt baade en Række smaa Kolonier og en enkelt stor. Desuden er hver Stamme undersøgt saavel ved 37° som ved Stuetemperatur. Hæmolyseforsøgene har for de fleste Stammer været gentagne tre til fire Gange. Der har ikke kunnet paavises nogen Forskel i Hæmolysen paa forskellig tykke Plader, heller ikke bevirkede Koloniernes Størrelse nogen Forskel i Hæmolysen.

De færreste af Stammerne kunde hæmolysere ved Stuetemperatur, hvilket utvivlsomt for en stor Del skyldes den langt daarligere Vækst, der gennemgaaende finder Sted ved denne Tempe-

ratur. Stamme 15, der i Modsætning til de fleste af de andre vokser langt bedre ved Stuetemperatur, viser ved denne Temperatur udtalt Hæmolysindannelse, medens der ingen saadan finder Sted ved 37°.

2 Stammer hæmolyserede kun ved Stuetemperatur, 3 baade ved Stuetemperatur og 37° og 22 kun ved 37°.

De Hæmolysen, der fandt Sted ved Stuetemperatur, var Hæmoglobinopepsier, idet stromata ved Mikroskopi fandtes bevarede. De indtraf paa 5.—7. Dag og viste sig makroskopisk som tydelig circumskript Hæmolyse, der efter at have naaet fuld Udvikling forbliver uforandret i Observationstiden.

Anderledes med Pladerne ved 37°. Hæmolysen her var ogsaa Hæmoglobinopepsi; den indtraf allerede 3.—5. Dag og viste sig makroskopisk de første Dage som Hæmolysen ved Stuetemperatur, men snart begyndte en Udviskning af Hæmolysezonen Grænser, den klare røde, transparente Zone antog en mørkere rødbrunlig Farve og blev samtidig mindre transparent; sluttelig var det ikke muligt at se nogen Hæmolysezone, men hele Pladen syntes dog at være noget lysere end en tilsvarende, hvor ingen Hæmolyse havde fundet Sted.

Dette ejendommelige Forhold fandtes ved alle hæmolyserende Kulturer ved 37°, ogsaa ved de 3, der ved Stuetemperatur viste Hæmolyse uden paafølgende Udviskning. Ofte udvikledes Hæmolysen kun svagt og var kun synlig en enkelt Dag og forsvandt den næste, men den kunde ogsaa staa klart og skarpt nogle Dage før Udvisningen begyndte.

Jeg har ikke i Litteraturen fundet nogen Angivelse af et saadant Forløb af en Hæmolyse. *R. Brinkmann* og *A. v. Szent-Györgyi*, *Starlinger* og *Strasser* samt *Bogendørfer* og *Halle* og andre har beskrevet en Reversion af Hæmolysen, der bestaar i en Skrumpning af de ikke fuldstændig opløste Blodlegemer og ægte Tilbagevenden af det i fri Opløsning værende Hæmoglobin. Ved denne Proces antager den lakfarvede Blodopløsning atter Dækfarve. En saadan Reversion er paavist ved Indvirkning af visse Salte samt af Druesukker paa Blodopløsning, men udebli-
ver ved Indvirkning af Urinstof, Lipoid- og Æggehviteopløsning.

Der kan dog næppe være Tale om noget saadant i mine Forsøg. Den Farveforandring, der foregaar til rødbrunt, undertiden til graabrunt, tyder paa, at der finder en Omdannelse Sted af Hæmoglobinet maaske til Hæmatin eller til Methæmoglobin, en Omdannelse, der mulig er fremkaldt af Enzymer, der kun produceres ved 37°; der foreligger ogsaa den Mulighed, at Stammerne ved 37° forgæver de tilstedeværende Kulhydrater, og at Syredannelsen bevirker en Omdannelse af Hæmoglobinet. Det vilde under denne Forudsætning være naturligt, at Processen kun finder Sted ved 37°, da Stammens Enzymproduktion er kraftigst ved denne Temperatur.

Foruden disse hæmolyserende Stammer fandtes der to, der dannede en grønlig Zone omkring Kolonierne, hvilket som omtalt ifølge *Kovács* og *Krafft* skulde skyldes en Methæmoglobin-dannelse.

Kulturerne, der begynder som bittesmaa, farveløse Kolonier, gennemløber under deres Vækst paa Blodagar en Farveskala fra hvidt til graat, blaagraat, lysgrønt og mørk olivengrønt. Er Væksten daarlig, forbliver Farven hvid og kan ogsaa blive staaende ved den blaalige Farve; dette ses hyppigst paa Pladerne ved Stuetemperatur. Farveskiftet finder ogsaa Sted, selv om der ikke samtidig kan iagttages nogen Hæmolyse, men jeg har ikke i noget Tilfælde fundet Hæmolyse, uden at der var en Farveforandring af Kolonien. Stammer udsaaede til Kontrol paa Kartoffelbouillonagar under samme Vækstbetingelser viste ingen Farveforandring; der kan næppe være Tvivl om, at denne skyldes Optagelse af Nedbrydningsprodukter af Hæmoglobin.

Iblandt de Stammer, der viste sig at være hæmolyserende, findes Repræsentanter for alle 4 Hovedgrupper, men det er dog paaafaldende, hvor relativt langt hyppigere særlig Alkalistammerne, men ogsaa de neutrale, synes at være i Besiddelse af denne Egenskab i Sammenligning med Syrestammerne. Alkalistammerne udgør 12 % af det samlede Materiale, men 26 % af de hæmolyserende Stammer. N^I henholdsvis 7 % og 11 % og N^{II} 6 % og 7 %, medens Tallene for Syrestammerne er 87 % og 44 %.

SEROLOGISKE UNDERSØGELSER

I Kapitlet om Forgæringer har jeg fremhævet, at de Undersøgelser, der er foretagne over Actinomyceternes Forgæring, er faatallige og utilstrækkelige. I endnu højere Grad gælder dette for de serologiske Undersøgelser, der foruden at være vanskeligere at gennemføre i al Almindelighed har stødt paa en Række særlige Vanskeligheder overfor disse Microorganismer.

Fritsche har 1908 forsøgt saavel Agglutination som Komplementbinding overfor Tuberkelbaciller og enkelte andre syrefaste Microorganismer og Actinomyceter. Agglutination kunde ikke anvendes, Komplementbinding kunde i de fleste Tilfælde paavises ved Blanding af det behandlede Dyrs Serum med den homologe Stamme; med heterologe Stammer langt sjældnere.

Schukevitch har 1909 offentliggjort en Række Agglutinationsforsøg med forskellige kendte Actinomyceter (*A.farcin.*, *A.Eppingeri*, *A.polychromogenes*, *A.maduræ* etc.). Det agglutinerende Serum stammer fra Kaniner immuniserede ved gentagne, gennem flere Maaneder udførte intravenøse Injektioner. Saadanne Sera kan agglutinere andre Actinomycesarter end den til Immunisering anvendte (gælder f. Eks. *A.farcin*, *A.Eppinger* *A.Sabrazès-Rivièri*, *A.caprae*, *A.Deci*, *A.violac.*).

Claypole har 1913 meddelt nogle Komplementbindingsforsøg med *Streptothrix hominis* Foulerton, *strept.Eppingeri*, *S.No-card*, *s.caprae*, *s.asteroides*, *bac.lepræe*, *bac. tub.* Det anvendte Serum fremstilledes ved intravenøs Injektion af $\frac{1}{2}$ cm³ Baktérieopslemning i Ørevene paa Kanin 4 Gange med 3 Dages Interval; efter 8—9 Dage Blodtagning etc. Serumfortyndingerne var 1/10 — 1/20 — 1/40 1/320. Resultaterne viser aftagende Reaktion fra de myceliale mod de bacillære Former

for Sera fra myceliale Organismer. Sera fra bacillære forholder sig omvendt. En Mellemform danner s. l. Eppingeri. Undersøgelsen resulterer i, at det er umuligt saavel morfologisk som biologisk og serologisk at drage en bestemt Grænse mellem disse Micro-organismer, der er gradvise Overgange fra de myceliale Organismer til de bacillære.

Mindre Undersøgelser er foretagne af *Zitz* og *Biagi*.

Widal, *Abrami*, *Joltrain*, *Brissaud* og *Weil* har fundet konstante Agglutinations- og Komplementbindingsforhold for *sporotrichum Beurmanni*. Kun Sporeopløsningen agglutinerer regelmæssigt, og det skal være gammel Kultur (6 Uger—3 Måned) samt vokset paa fast Substrat. Med Serum fremstillet af denne Sporeopløsning kan Actinomycester dog ikke agglutineres, da Mycelet ikke kan agglutinere, men Komplementbinding foregaar let, og den foreslaas anvendt som Actinomycesreaktion.

Harbitz og *Grøndahl* har med Originalkultur af *Sporothrix* efterundersøgt denne Metode, men faaet negativt Resultat.

Colebrook har gjort Agglutinationsforsøg med *Act. bovis* og opnaaet positivt Resultat.

Af *P. Holm* er der i 1930 offentliggjort nogle Forgærings- og Krydsagglutinationsforsøg foretagne med 9 anaerobe Actinomycet-Stammer. De undersøgte Stammer kunde deles i 2 serologisk og forgæringsmæssigt skarpt adskilte Grupper.

Egne Undersøgelser.

Til Undersøgelse af de serologiske Forhold har jeg først prøvet at anvende Agglutination. Til Forsøget anvendtes Sera fremstillede ved Injektion af dræbt Kultur i Ørevne paa Kanin; det viste sig nødvendigt for at opnaa en tilstrækkelig Titer at injicere rigeligt, nemlig 8 Injektioner af en Standard 8 Opløsning (*Wulff's Skala*) først i følgende Mængde 0,5 — 1 — 1,5 cm³ injicerede med 5 Dages Interval, og da dette ikke gav tilstrækkelig Reaktion yderligere 0,5 — 1 — 1,5 — 1,5 — 2 cm³ atter med 5 Dages Interval; der var nu positiv Reaktion med den homologe Stamme i Fortyndinger til 1/800.

Imidlertid var en saa stor Række af Stammerne spontan-agglutinerende, saa Forsøget maatte opgives, og jeg maatte gaa over til Komplementbindingsforsøg.

Disse Forsøg omfatter 9 Sera prøvede overfor 104 Stammer. Da Stammerne, særlig de syredannende, som omtalt er vanskelige at holde i Live, var en Del af dem, da de serologiske Forsøg skulde begynde, uddøde, og jeg maatte for at faa et tilstrækkeligt Antal indsamle nye Stammer, det drejer sig om Stammerne fra No. 100. Jeg benyttede Lejligheden dels til at stille strengere Krav til den morfologiske Overensstemmelse med Gruppe II b, som med Vilje var blevet noget tilsidesat i første Forgæringsrække for ogsaa at faa Repræsentanter med fra Nabogrupperne, dels anvendte jeg — som anført i Kapitlet om Forgæringer — en anden Forgæringsteknik for at undgaa Vanskelighederne fra første Række. Ved den strengere morfologiske Udvalgelse viste det sig, at det forholdsvise Antal af Syredannere steg yderligere, saaledes at der i denne sidste Del af Materialet kun findes 2 neutrale Stammer og ingen Alkalidannere, hele Resten er Syredannere.

De Stammer, der udvalgte til Fremstilling af Sera, valgte jeg efter foreløbig opstillede Forgæringsgrupper; der er 5 Syredannere (24 — 39 — 79 — 87 — 96), 2 neutrale (15 — 50) og 2 Alkalidannere (16 — 66).

Da mange af Stammerne vokser daarligt og langsomt, var der en ikke ringe Vanskelighed ved at fremskaffe den fornødne Mængde Kultur til Antigener. Jeg er gaaet frem paa følgende Maade: Stammen saas om et Par Gange i halvflydende Agar, indtil Væksten bliver kraftig; der saas da ud i 4 Smaakolber hver indeholdende 50 gram Bouillon; Thermostat i 2 Døgn; derefter suges Bouillonon bort, Kulturen vadskes med 3 Hold fysiologisk Saltvand, undersøges for Renhed ved Udsæd paa Plade og Mikroskopi, og slemmes op i fysiologisk Saltvand, dræbes ved Opvarmning til 65° i 30—60 Minutter, derefter Standardisering — til $2,5 \times$ Standard 8 — og Opbevaring i Isskab. Tilberedningen af Opslemningerne har kunnet berede nogle Vanskeligheder, i Reglen er det dog lykkedes ved at trække Kulturen gentagne Gange gennem Pasteurpipette at skaffe en nogenlunde

homogen Opslemning, enkelte Gange har jeg maattet rive Kulturen ud med Pistil.

Fra Agglutinationsforsøgene var jeg klar over, at der til Opnaaelse af brugeligt Serum fordrederes ret store Injektioner, som ogsaa taaltes godt. Til Injektionen anvendtes en Standard 8 Opslemning i 0,2 % Formalinopløsning i fysiologisk Saltvand. Før Injektionerne paabegyndtes, toges en Blodprøve til Undersøgelse for spontan Komplementbinding med den Stamme, der skulde anvendes til Injektion, der kunde dog i intet Tilfælde paavises en saadan Komplementbinding. Der gaves med 5 Dages Interval Injektioner paa henholdsvis 1 — 2 — 4 — 6 — 6 cm³, efter femte Injektion toges Blodprøve til Bestemmelse af Antistofdannelsen. Ved utilstrækkelig Styrke fortsattes med Injektioner af 6 cm³ Antigenopslemning. I éet Tilfælde var 5 Injektioner tilstrækkelige (96), i 2 Tilfælde har jeg maattet give 10 Injektioner (15 og 66) for at faa tilstrækkelig kraftigt Serum, i de øvrige 8. I 3 Tilfælde fremkaldte Injektionerne Smaaabscesser og Obliteration af Venerne. Naar Blodproven viste tilstrækkelig Styrke af Serum — der ønskedes total Hæmolysehemning i Serumfortynding 1/800 med Antigentæthed 1,6 Standard 8 — foretoges Totalaareladning. Efter Fjernelse af Koaglet og Centrifugering afpipetteredes Serum paa smaa Glas, inactiveredes ved Henstand ved 56° i 30 Minutter og opbevarede nedfrosset i Isskab.

Efter Forsøg over den optimale Antigenkoncentration valgtes en Koncentration paa $1,33 \times \text{St. 8}$ i 0,25 cm³, denne er derefter anvendt i Forsøgene.

For nogle Stammers Vedkommende har det været nødvendigt paa Grund af Selvhæmning at tage mindre Mængde Antigen, i nogle Tilfælde var det tilstrækkeligt at gaa ned til halv Antigenmængde — dette gælder for Stammerne 6, 120 og 133, i andre Tilfælde maatte jeg gaa ned til en Fjerdedel af den ellers anvendte Antigenkoncentration, nemlig for Stammerne 11, 15, 92 og 113, og for Stamme 11's Vedkommende har jeg endda maattet kombinere dette med dobbelt Komplementmængde.

Stamme 11 tilhører morfologisk Gruppe IIa, og blev taget med som Repræsentant for denne Nabogruppe, forgeringsmæs-

sigt findes den i Neutralgruppe II, hvortil ogsaa 6, 15 og 92 hører; de forgærer kun Xylose; der er endnu 2 Stammer, der har samme Forgæring, Stammerne 27 og 82; 27 er ikke selv hæmmende, 82 blev ikke serologisk undersøgt, da den var gaaet til Grunde inden Forsøget. 120 og 133 er begge svage Syredannere og forgærer kun Pentoserne fuldstændigt, medens Galaktose viser svag Farveforandring. 113 forgærer derimod flere Sukkerarter og er en ret kraftig Syredanner.

Fra Wassermannafdelingen har jeg venligst faaet overladt det hæmolytiske System: en 5 % Opslemning af Faareblodlegemer i 0,9 % NaCl-Opløsning, Amboceptor: inactiveret Serum fra Kaniner med intravenøs Injektion af steril, knust Marsvinenyre og Komplement: frisk Marsvineserum.

Komplementtiteren, der bestemmes daglig, har jeg i Reglen faaet opgivet fra Diagnosestationens Gonokok-Afdeling; naar jeg selv har bestemt den, er jeg gaaet frem paa følgende Maade: 3,2 cm³ 0,9 % NaCl-Opløsning + 0,10 cm Komplement udpipetteres i 6 Glas i følgende Fortyndinger:

	I	II	III	IV	V	VI
Komplement	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10
Saltvand	0,19	0,18	0,17	0,16	0,15	0,14
Blod + Amboceptor	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15

Derefter 10 Minutter Vandbad (37°) og 20 Minutter Thermostat (37°). Det Glas, der med mindst Komplementmængde endnu viser fuldstændig Hæmolyse, angiver Titeren.

Amboceptortiteren har foreligget, den bestemmes kun, naar et nyt Serum tages i Brug.

Komplementbindingsforsøgene er udførte efter den af Dr. *Martin Kristensen* til Gonokokkomplementundersøgelser udarbejdede Metode, idet jeg dog har anvendt 5 Glas.

Af praktiske Hensyn har jeg foretaget Undersøgelsen saaleds, at hvert Forsøg omfatter 3 Sera prøvede overfor 55 Antigener. Herved opnaas en Tidsbesparelse, idet man faar færre Skylninger af Antigenpipetterne, disse Skylninger maa udføres meget omhyggeligt for at undgaa Sammenblanding af Antigener, og er derfor ret tidsrøvende.

I hvert Forsøg er de med de anvendte Sera homologe Antigener medtagne og desuden tre andre Kontrolantigener til indbyrdes Korrektion af Forsøgene. De Afvigelser, der er fundne i de forskellige Forsøgsrækker, er imidlertid ganske ubetydende.

Til Undersøgelsen anvendtes Dværgreagensglas anbragt i Stativer; til hvert Serum svarede 5 Rækker paa 55 Glas, hver Række med sin Serumfortynding. Til sidst en Række Serumkontroller. For hvert Antigen fandtes et Antigenkontrolglas.

Der arbejdedes med et Totalvolumen paa 0,25 i Bindingsglassene.

Først fremstilledes Antigenerne, idet man afpipetterede 0,30 cm³ Saltvand i almindelige Reagensglas, og hertil afpipetteredes 2,40 cm³ af Standardopslemningen paa $2,5 \times$ Standard 8. Dernæst fremstilledes Serum + Komplementfortynding i 5 Flasker, hver Flaske svarende til sin Række, og en sidste Flaske uden Serum til Antigenkontrol.

Fortyndingerne var følgende:

Komplement	Serum	Saltvand
$3,2 \times t$	0,20	ad 8 cm ³ Totalvolumen.
»	0,10	» »
»	0,05	» »
»	0,025	» »
»	0,012	» »
»	0	» »

t betegner Komplementtiteren.

Fra hver Flaske sattes nu til den tilsvarende Række Dværgreagensglas 0,10 cm³ til hvert Glas. Fra Antigenglassene afpipetteredes 0,15 cm³ Antigenopslemning til hvert Glas, i den til Antigenet svarende Række paa 16 Glas. Serumfortyndingerne i Glassene var nu:

1/100 — 1/200 — 1/400 — 1/800 — 1/1600. Kun et enkelt Serum, nemlig Serum VI (Stamme 39) var saa kraftigt, at jeg har maattet undersøge det i betydelig svagere Fortyndinger, nemlig følgende:

1/400 — 1/800 — 1/1600 — 1/3200 — 1/6400.

Glassene henstod efter omhyggelig Rystning 2 Timer ved Stuetemperatur, hvorefter der til hvert Glas sættes 0,15 cm³ Blod + Amboceptor. Derefter Vandbad (37°) 10 Minutter, Thermostat (37°) 20 Minutter, Henstand 1½ Time ved Stuetemperatur, hvorefter Aflæsning ved Hjælp af en Hæmolyseskala, der fremstilles paa følgende Maade: 1 cm³ Blod + Amboceptor blandes med 1½ cm³ destilleret Vand, heraf afmaales i en Række Glas, saa ensartede som mulig:

	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	0,05	0,00	
der tilsættes	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40	0,45	0,50 cm ³	aq.

dest. Man faar da følgende Hæmolysegrader:

10	8	6	4	2	1	0
----	---	---	---	---	---	---

idet total Hæmolyse sættes lig 10.

J. Jessen skriver i sit Arbejde over gramnegative Kokker, at hans Hæmolysekurver ved Undersøgelse af faldende Doser Antigen overfor samme Serum, og faldende Doser Serum overfor samme Antigen, naar Serum- og Antigendoserne falder efter en Kvotientrække, hvor Kvotienten er ½, falder ganske nøje sammen med de af *Martin Kristensen* ved Undersøgelse af Gonokoksera fundne, til Trods for at Serumkoncentrationen i de af *Martin Kristensen* undersøgte Fortyndinger faldt med ⅔, eller efter en Kvotientrække med Kvotienten ⅓. Han har derfor angivet Komplementbindingens Styrke overensstemmende med den af *Martin Kristensen* udarbejdede Tabel, og da mine Serumdoser ligeledes falder efter en Kvotientrække med Kvotienten ½, har ogsaa jeg anvendt denne Tabel (*Martin Kristensen: Acta Path. et Microbiol. Scand.* 1930, Bd. 7, 103). Den højest maalte Hæmolysehæmning var 15, 0 angiver Hæmolysen 6.10.

Udfor hver Stamme er ved et Bogstav angivet, om den er Syredanner (S) Neutral (N) eller Alkalistamme (A), for Neutralgruppen er tillige angivet I og II, I er den forgærmæssig set almindelige Neutralgruppe, hvortil Stamme 50 (Serum XI) hører, II er »Xylosegruppen« med Serum XIV (Stamme 15). Nærmere Gruppeinddeling er ikke medtaget.

For Stammerne 7, 9 og 10 har Antigenmængden været utilstrækkelig, saa de har ikke kunnet prøves overfor 3 Sera (XVI, II og XIV).

Skemaerne viser en ganske tydelig serologisk Adskillelse mellem de tre — ogsaa forgæringsmæssigt forskellige — Grupper: Syredannere, Neutrale og Alkalidannere; tillige viser det sig, at de neutrale Stammer, der forgæringsmæssigt set danner en Overgang mellem Syredannerne med de talrige Forgæringer og Alkalidannerne med de relativt faa, ogsaa serologisk danner en tydelig Melleform, der reagerer med begge Grupper. Det Serum, det drejer sig om er Serum XI fra Stamme 50, der tilhører denne Gruppe (I), medens Serum XIV, der er fremstillet med Stamme 15 tilhørende den anden Neutralgruppe (II), der kun forgærer Xylose, i Hovedsagen kun reagerer med neutrale — og stærkest med neutrale af Xylosegruppen — og med nogle Alkalidannere.

Serologisk reagerer de tre Grupperes Antigener altsaa først og fremmest med den paagældende Gruppens Serum, og dette viser sig meget tydeligt, tillige reagerer næsten alle med Neutralgruppe I's Repræsentant, men fra denne udtalte Regel gives der nogle Undtagelser, særlig manifesterede de forskellige Grupper Gang paa Gang det Slægtskab, der dog, trods Forskelligheder, binder dem sammen, idet man ser saavel Syredannere, der reagerer — omend i Reglen svagt — med Alkaligruppens Sera og ligeledes omvendt. Derimod er det ikke lykkedes serologisk at paavise Forskelle mellem de enkelte Forgæringsgrupper indenfor Alkaligruppen eller Syregruppen.

Ser man paa de enkelte Sera viser af disse Serum VI (Stamme 39), Serum XVI (Stamme 79) og Serum V (Stamme 24), der alle er fremstillede med Syredannere, udpræget Syregruppe-karakter; Serum II fra Stamme 96, der er en af de svagere Syredannere, reagerer med nogle Alkalistammer om end svagt. Serum IV er fremstillet med Stamme 87, denne er en kraftig Syredanner, men viser fra de foregaaende afvigende serologiske Forhold, idet den reagerer med saa overordentlig faa Syrestammer, nemlig i det Hele kun med 20 hvoriblandt den homologe; imellem disse Stammer findes i andre Henseender ingen større Samhørighed end mellem Syrestammer i al Almindelighed. Desuden reagerer Serum IV med 6 Neutralstammer — 5 af Gruppe I og 1 af Gruppe II — og med 2 Alkalistammer, med den ene

af disse — Stamme 58 — endda kraftigt. Stamme 87, der i næsten alle sine Egenskaber — Morfologi, Syredannelse, Forgæring, T-agglutination, Mælkesyredannelse — er en typisk Repræsentant for Gruppen, synes altsaa serologisk at indtage en Særstilling.

Det næste Serum XI (Stamme 50) svarer til den Neutralgruppe, der forgæringsmæssigt indtager en Mellemstilling mellem Syredannere og Alkalidannere; ogsaa serologisk giver dette sig Udtryk, idet Serum XI reagerer med saa godt som alle Antigener, kun 2 Neutralstammer af Gruppe II — 11 og 15 — og Syrestammerne 100, 141 og 144 viser negativ Reaktion.

Serum XIV — Stamme 15 af Neutralgruppe II reagerer kraftigst med Antigener fra samme Gruppe og reagerer med alle disse, dernæst med Antigener af Neutralgruppe I; her er dog 4 negative; endvidere med 9 Alkalistammer, hvoraf en enkelt kraftig Reaktion, og med 5 Syrestammer, der alle viser svagere Reaktion.

Serum XV — Stamme 66 — er Serum fra en typisk Repræsentant for Alkaligruppen, den reagerer med 11 af de 12 Alkalistammer — heriblandt den homologe — og med de fleste kraftigt; den eneste negative er Stamme 16, men dennes Serum reagerer svagt med Antigen fra Stamme 66. Desuden reagerer 66 med 8 Neutralstammer, men kun med 11 Syredannere, og af disse sidste Reaktionen er de 9 yderst svage, og ingen er kraftige.

Det sidste Serum X (Stamme 16) er fra en Alkalidanner, hvis Forgæringsforhold, som det fremgaar af Skema I er noget afvigende, og som ogsaa morfologisk tilhører en anden Gruppe, idet det er en typisk vinkelvoksende Bakterie uden Forgreninger, den reagerer med alle 12 Alkalistammer, med fem meget kraftigt — heriblandt den homologe — med én — Stamme 66 — meget svagt, endvidere med 10 Neutrale og 24 Syrestammer, hvoraf 14 svage og ingen kraftige.

Det fremgaar af Forsøget, at det er muligt at fremstille brugelige Sera med disse Actinomyceeter, men at man maa anvende forholdsvis mange og stærke Injektioner for at opnaa en tilstrækkelig Titer.

Den distinkte serologiske Adskillelse, man opnaar i denne i Forhold til hele Actinomyceetriget lille Gruppe, gør det sandsynligt, at mangt et negativt Resultat i tidligere Undersøgelser skyldes, at de spredte Exemplarer, der har været anvendt i Forsøgene, har været hinanden ret fjerntstaaende, idet som omtalt Forgreningerne tidligere har været anset for saa karakteristiske og sjældne, at man, naar man traf paa dem, har ment at maatte staa overfor en enkelt, lille Familie, medens nyere Undersøgelser har belært os om, hvilket vidtstrakt Rige med mange, dybt forskellige Individer, Actinomyceterne repræsenterer, hvilket altsaa ogsaa bekræftes af disse Undersøgelser.

Nr.	Gruppe	Stamme 39 Serum VI	Stamme 79 Serum XVI	Stamme 24 Serum V	Stamme 96 Serum II	Stamme 87 Serum IV	Stamme 50 Serum XI	Stamme 15 Serum XIV	Stamme 66 Serum XV	Stamme 16 Serum X
1	S	7	10	12	9	0	10	0	0	0
3	S	6	10	12	8	0	10	0	0	0
4	S	8	10	9	10	0	10	1	0	0
5	S	9	7	11	6	2	10	0	0	0
6	N II	0	0	4	8	5	8	7	9	0
7	N II	0		0		0	10		6	4
8	N I	0	0	0	6	0	10	0	1	4
9	S	7		15		0	8		0	1
10	S	7		11		0	8		0	1
11	N II	0	0	0	0	0	0	7	0	0
14	A	0	1	0	0	0	8	0	1	11
15	N II	0	0	0	0	0	0	15	0	0
16	A	0	0	0	0	0	6	4	0	15
17	N I	0	0	0	0	0	6	0	0	8
18	A	1	0	1	2	0	12	6	9	8
19	S	6	8	8	10	0	9	0	0	2
20	A	1	0	0	8	0	12	7	4	6
22	S	8	6	8	7	0	6	0	0	2
24	S	2	7	14	7	0	6	0	4	0
26	S	7	9	8	12	0	8	0	0	0
27	N II	0	0	0	0	0	7	5	0	0
28	S	5	4	6	3	5	10	0	0	0
29	N I	1	0	2	2	1	15	7	2	6
30	S	5	6	6	5	6	9	0	2	2
31	A	1	0	0	1	0	8	7	8	7

Nr.	Gruppe	Stamme 39 Serum VI	Stamme 79 Serum XVI	Stamme 24 Serum V	Stamme 96 Serum II	Stamme 87 Serum IV	Stamme 50 Serum XI	Stamme 15 Serum XIV	Stamme 66 Serum XV	Stamme 16 Serum X
33	A	1	0	0	4	2	11	9	8	5
34	A	0	0	2	0	0	9	2	5	6
39	S	7	6	11	11	0	7	6	0	4
42	S	6	10	8	15	0	10	0	0	4
49	N ^I	4	1	3	12	2	15	8	6	7
50	N ^I	5	6	3	11	7	15	11	6	7
51	S	7	6	8	6	0	7	0	0	2
54	S	7	9	14	10	0	10	0	0	5
55	S	5	3	4	6	0	6	0	0	0
57	S	4	6	9	6	0	7	0	0	0
58	A	1	0	0	9	5	10	8	11	6
59	S	5	0	2	0	6	5	0	0	4
60	S	5	8	12	10	2	9	0	0	4
62	A	0	0	0	0	0	12	0	6	5
63	S	5	8	6	10	4	11	0	0	4
64	S	5	8	8	10	0	10	0	0	4
65	S	5	8	9	10	0	10	0	0	4
66	A	1	0	0	0	0	5	8	15	1
67	N ^I	5	0	8	7	5	14	6	11	5
69	A	2	0	0	0	0	7	0	8	8
71	S	6	8	10	10	0	11	0	0	0
72	S	6	8	9	12	0	10	0	1	3
74	S	5	8	6	5	0	10	0	0	5
75	S	3	4	6	0	0	7	0	0	3
76	S	5	10	8	11	0	11	0	1	3
78	N	0	0	0	0	0	11	0	0	0
79	S	5	10	12	10	0	11	0	0	5
80	S	5	0	5	0	0	11	9	1	7
83	S	2	7	7	8	0	12	0	0	4
84	S	4	9	9	9	0	11	0	0	6
87	S	0	0	5	2	10	11	0	0	0
88	S	0	8	9	9	0	8	0	0	0
89	S	2	8	9	10	0	10	0	0	0
91	S	2	2	9	10	1	12	0	0	0
92	N ^{II}	0	0	0	5	0	7	4	0	8
93	S	7	10	11	10	0	7	0	2	0
95	S	7	6	11	5	0	10	0	0	1
96	S	6	8	11	9	0	4	0	0	0
97	S	5	8	11	9	0	4	0	0	0

Nr.	Gruppe	Stamme 39 Serum VI	Stamme 79 Serum XVI	Stamme 24 Serum V	Stamme 96 Serum II	Stamme 87 Serum IV	Stamme 50 Serum XI	Stamme 15 Serum XIV	Stamme 66 Serum XV	Stamme 16 Serum X
98	Σ	4	7	9	Σ	0	11	0	0	0
99	A	0	0	0	4	0	7	4	5	4
100	Σ	5	4	Σ	Σ	0	0	0	0	0
106	Σ	7	8	13	6	0	7	0	0	0
113	Σ	1	2	8	Σ	0	Σ	0	0	0
118	Σ	4	8	7	Σ	Σ	Σ	0	0	0
119	Σ	4	2	6	0	10	Σ	0	1	0
120	Σ	4	1	8	0	0	10	0	0	0
121	Σ	0	1	7	0	5	9	0	0	0
122	Σ	5	7	7	Σ	0	12	0	0	0
123	Σ	5	7	6	9	1	7	0	0	0
126	Σ	5	0	6	Σ	0	3	0	0	0
128	Σ	7	6	8	5	0	6	0	0	0
131	Σ	4	5	10	5	0	9	0	0	0
133	Σ	8	5	2	Σ	0	3	0	0	0
134	NI	1	2	0	Σ	1	4	0	0	Σ
138	Σ	4	5	0	Σ	Σ	9	5	0	0
139	Σ	6	10	10	11	0	7	0	0	0
140	Σ	1	10	10	Σ	0	Σ	0	0	0
141	Σ	5	6	10	6	0	0	0	0	0
142	Σ	5	4	11	5	9	13	0	1	0
144	Σ	0	0	1	0	0	0	0	0	0
146	Σ	3	3	10	6	12	13	0	5	0
147	Σ	3	8	13	12	0	Σ	0	0	0
148	Σ	6	8	8	10	0	9	0	0	0
149	Σ	5	8	9	4	0	4	0	0	1
152	Σ	5	8	Σ	10	0	3	0	0	0
153	Σ	8	8	8	7	5	7	0	0	0
154	Σ	6	6	9	6	0	4	6	5	0
155	NI	0	0	0	0	0	Σ	6	0	Σ
156	Σ	7	11	6	7	Σ	Σ	0	0	0
157	Σ	7	4	11	0	11	6	0	0	0
159	Σ	1	6	8	5	1	5	0	0	0
160	Σ	3	11	14	10	0	4	0	0	0
163	Σ	5	8	Σ	10	0	11	0	0	0
165	Σ	7	11	11	Σ	0	4	0	0	0
168	Σ	5	4	7	1	0	10	0	0	0
170	Σ	Σ	10	7	12	4	10	0	4	0
171	Σ	4	1	11	1	0	4	0	0	0

T-AGGLUTINATION

O. Thomsen har i 1927 beskrevet et Hæmagglutinationsfænomen, bestaaende i, at Menneskeblodlegemer af enhver Gruppe under Indvirkning af et transmissibelt Agens, kan forandres, saaledes at de bliver agglutinable i ethvert Serum ogsaa i Serum AB og i Individets eget Serum.

I 1930 har *Friedenreich* paavist Aarsagen til dette Fænomen; det viste sig at være fremkaldt ved bakteriel Paavirkning, idet et af visse Bakterier dannet Enzym paavirker en ukendt Bestanddel i Blodlegemet, saaledes at der dannes en Receptor, medens Serums agglutinerende Evne beror paa et særligt Agglutinin, der er uafhængig af Isoagglutininerne α og β , og som kaldes Tagglutinin, Receptoren kaldes T-receptor, hele Processen Tagglutinationen.

De paagældende Bakterier — der fandtes to — som isoleredes fra indtørrede Blodprøver, viste sig at være typiske coryneforme vinkelvoksende Bakterier.

Friedenreich undersøgte en Række Bakterier for samme Egenskab, men fandt den kun hos enkelte Vibrioner, samt hos nogle lysende Bakterier, derimod gav nogle Undersøgelser over andre coryneforme Bakterier samt over Difteristammer negativt Resultat.

Det nære Slægtskab mellem de coryneforme Bakterier og mine Actinomycetstammer af Gruppe II b indbød til en Undersøgelse af disse med Hensyn paa Tagglutinationen, og *Friedenreich* og jeg undersøgte i første Række 98 Stammer, senere har jeg yderligere undersøgt 27, ialt undersøgtes saaledes 125 Stammer, hvoraf 90 Syredannere, 11 Gruppe N^I, 7 Gruppe N^{II} og 17 Alkalistammer.

Til Transformation af Blodlegemerne anvendtes Bouillon,

hvori Bakterierne havde vokset 4 Døgn, hvorefter de var fjernede ved Centrifugering. Selve Undersøgelsen foretoges efter Objektglasmethoden d. v. s. Blanding af Serum og Blodlegemesuspension paa Objektglas og makroskopisk Aflæsning efter 20 Minutter. Resultatet kontrolleredes altid ved Mikroskopi, og der anvendtes Saltvandskontrol, ligesom eventuelle negative kontrolleredes efter 24 Timers Forløb. Med Hensyn til nærmere angaaende Teori og Teknik, maa jeg henvise til Friedenreichs Afhandling: The Thomsen hemagglutination phenomenon.

Resultatet af Undersøgelserne findes paa Skema Side 111.

Det fremgaar heraf, at denne Egenskab: at kunne producere et Enzym, der ved Indvirkning paa Blodlegemer danner en T-receptor, er en meget almindelig Egenskab blandt Bakterier af denne Gruppe; endvidere ser man, at den i langt overvejende Grad findes i Syregruppen, nemlig 80 % (72 positive af 90 undersøgte), medens Alkaligruppen viser 18 % positive (3 af 17), N^I har 10 % (der endda kun er repræsenteret ved én svag Reaktion af 11 undersøgte) og N^{II} ingen positive (7 undersøgte).

Friedenreich har ved Undersøgelsen af sine to Stammer M og J fundet, at de ikke forgærer Kulhydrater. Jeg fik venligst overladt begge Stammer til Undersøgelse, og foretog Forgæringsundersøgelser med dem efter min sædvanlige Methode i Extraktbouillon med Sukkerarter. Resultatet findes paa Skema III; det ses, at begge Stammerne hører til Alkalidaunerne, J forgærer intet og hører saaledes til Gruppe V, hvortil hører Stammerne 14 og 66; 66 er den ene af de tre Alkalidannere i mit Materiale, der er T-positive. En Forgæring som M's findes ikke blandt mine Stammer.

Det kan forekomme paafaldende, at det netop er to Repræsentanter for Alkaligruppen, *Friedenreich* har fundet som Aarsag til Fænomenet, skønt denne Gruppe i procentvis langt færre Tilfælde er i Besiddelse af Egenskaben end Syregruppen, i hvilken den findes i 80 %. Forklaringen ligger dog ligefor, naar man betænker Bakteriernes Vækstmodus og Syregruppens paafaldende ringe Resistens og sammenholder det med de Betingelser, hvorunder Isolationen maatte foretages, nemlig fra Blodprøver, i hvilke der ogsaa fandtes en Del andre Bakterier. Spredtes

der herfra, lykkedes det ikke at isolere Bakterierne, idet disse Stammer i Forhold til de fleste Bakterier vokser meget langsomt; det tager ofte 2—4 Dage inden Kolonierne naar en makroskopisk synlig Størrelse, og er de udsaaet paa Plade sammen med andre Bakterier — mulig endda paa ikke specielt egnet Substrat — vil de yderligere hænges og let overvokses af de andre Mikroorganismer. Disse maatte da først dræbes, men ved

T-agglutinationer.

Syredannere				Neutrale		Alkalidannere			
1	+++	56	+++	100	+++	I	12	+++	
2	+++	57	+++	106	++	8	0	13	0
3	+++	59	(+)	113	0	17	0	14	0
4	+++	60	+++	119	+++	21	0	16	0
5	+++	61	+++	120	++	29	0	18	0
9	+++	63	+	121	0	37	0	20	0
10	+++	64	+	123	+	49	0	31	0
19	+++	65	+++	126	+	50	0	33	0
22	0	68	0	128	++	67	0	34	0
23	+++	70	+++	131	+++	78	0	44	0
24	0	71	(+)	132	+++	134	(+)	58	0
25	+++	72	+++	133	+++	155	0	62	0
26	0	74	+++	138	0			66	+++
28	+++	75	+++	139	0	II		69	0
30	0	76	+++	140	+	6	0	77	0
32	+++	79	+++	142	+++	7	0	86	+++
35	0	80	0	144	+	11	0	99	0
39	0	83	+++	146	0	15	0		
40	+++	84	+++	148	+++	27	0		
41	+++	85	+++	152	+++	82	0		
42	+++	87	+++	153	+++	92	0		
43	+++	88	+++	154	+++				
45	0	89	+++	156	+++				
46	+++	90	(+)	157	+++				
47	0	91	0	160	+++				
48	+++	93	+++	163	+++				
51	+++	94	+	170	0				
52	+++	95	+++	171	+++				
53	+++	96	++						
54	+++	97	0						
55	+++	98	+++						

Forsøg med Opvarmning og antiseptica mislykkedes det, da de søgte Bakterier altid viste ringere Resistens end de andre; og først ved Indtørring lykkedes det at isolere Bakterierne; en saadan Indtørring har jeg imidlertid ikke set, at nogen Syrestamme har kunnet overleve, men jeg har truffet det for flere Alkalistammer, der helt igennem viser større Resistens, som det blandt andet ogsaa fremgaar af Vækstforsogene i syntetisk Substrat.

Under sin Omtale af Betingelserne for Bakteriernes Produktion af Enzymet omtaler *Friedenreich*, at det kvælstofholdige Substrat har stor Betydning. Dyrkes Bakterierne f. Eks. i Bouillon uden Pepton, er Enzymproduktionen meget sparsom, en Jagttagelse, der ganske falder i Traad med den, der i dette Arbejde er gjort angaaende Sukkerenzymproduktionen.

PATHOGENITET

Siden *Israel* og *Boström* omtrent samtidig isolerede hver sin Actinomyceet som den formodede Aarsag til Actinomycosen, har Spørgsmaalet om Actinomyceternes Pathogenitet været brændende, og Meddelelser og Undersøgelser herover er talrige i paafaldende Kontrast til den Spredthed og Sparsomhed, der præger Undersøgelserne over Actinomyceternes andre Egenskaber.

Det egentlige Stridsspørgsmaal, om hvilken Microorganisme der forarsager Actinomycosen, og om denne mulig kan forarsages af flere forskellige Microorganismer, kan endnu ikke siges at være helt løst, selv om der mere og mere hersker Enighed om, at Actinomyces Wolff-Israel er den ætiologiske Faktor ved Hovedparten af Tilfælde af actinomycosis hominis og i en Række Tilfælde af Kvægets Actinomycese, efter *Magnusson* specielt Kæbeactinomycosen.

Imidlertid viser de talrige Meddelelser og Undersøgelser, der gennem Aarene er offentliggjort, at en Række aërobe Actinomycceter er pathogene. Meddelelserne drejer sig dels om Actinomycceter, der er isolerede fra Sygdomsprocesser, men ikke undersøgt for Pathogenitet ved Dyreforsøg (*Stoltz, Gjorgjevic, Rullmann, Berestnew, Flexner, Birt* og *Leishmann* o. a.), dels paa samme Maade isolerede, som har vist sig ved Dyreforsøg at være pathogene (*Baron og Patay, Nocard, Aoyama og Miyamota, Cohn, Kulikowska, Eppinger, Näslund, Ørskov, Silberschmidt, Lubarsch, Leyton* og *Leyton* o. a.), samt endelig om tilfældig fundne Actinomycceter fra Jord, Luft, sunde Mennesker eller Dyr, der ved Forsøg har vist sig pathogene for Dyr (*Lombardo-Pellegrino, Sanfelice, Terni, Lubarsch, Caminiti* o. a.).

De Sygdomsprocesser, fra hvilke disse Actinomycceter er iso-

lerede, har hyppigst været Abscesser med forskellig Lokalisation og Lungelidelser, desuden pyelonefritis, prostatitis, pericarditis, Actinomycose.

Actinomyceterne har været meget forskelligartede, der tales saavel om langtraadede, meget kraftig forgrenede Stammer med Lufthyfer, som om korttraadede, stærkt segmenterede, differi- og tuberkelbacillignende.

De ved Dyreforsøg (Injektion) fremkaldte Sygdomme skildres hyppigst som multipel Knudedannelse, enkelte Gange sepsis, *Näslund* har ved Inhalation fremkaldt Lungesygdom, ved Injektion Metastaser.

Af pathogene Actinomycester af Gruppe II b (Ørskov) maa i første Række naturligvis nævnes *Act. Wolff-Israel*; af aërobe *nocardia farcinica*.

I sit Arbejde om Kvægets Actinomycose omtaler *Magnusson* en aërob Microorganisme kaldet *bac. pyogenes*, som han har fundet i Renkultur i 10 Tilfælde af Kvægactinomycose, hvoraf 5 var Kæbeactinomycose, 5 Actinomycose i indre Organer. *Hülphers* har isoleret den samme i 19 af 67 Tilfælde af Kæbeactinomycose, *Gunst* i 4 af 17. *Magnusson* beskriver den som en grampositiv Stav, der er nær beslægtet med Wolff-Israel Actinomycet, og har en stor Tilbøjelighed til at danne Involutionsformer i ældre Kulturer. Mikroskopisk kan det patologiske-anatomiske Billede, den fremkalder, ikke skelnes fra det, der fremkaldes af Wolff-Israel's Bacil. Inoculationsforsøg er udført paa Kvæg, men har givet negativt Resultat. *Magnusson* tør ikke afgøre, om den kan foraarsage Kvægactinomycose, han omtaler den Mulighed, at der bag *bac. pyogenes*infektionen kan være skjult en Infektion med Wolff-Israel's Microb.

Jeg har elskværdigst faaet overladt en Stamme til nærmere Undersøgelse. Ved Mikroskopi a.m. Ørskov viste den sig som ventet morphologisk at tilhøre Gruppe II b, og ved den nærmere Undersøgelse viste den sig yderligere at tilhøre Syregruppen. Videre Forsøg er ikke foretaget med denne Stamme.

Som tidligere omtalt fandtes der Actinomycester ved Podninger fra pharynx og rhino-pharynx hos 28 % af sunde Personer; hos Patienter med forskellige Lidelser i Ører, Næse og Hals

fandtes de i 39 %; de Lidelser, det drejede sig om, var meget forskellige; Pharyngiter og Laryngiter udgjorde ca. 30 % de øvrige 70 % var Rhinitis, Otiter, Tumores etc. Actinomyceternes Forekomst paa syge Slimhinder er altsaa ikke knyttet til noget bestemt Sygdomsbillede, og de optræder — da Tallene er Minimumstal — i meget stort Antal ogsaa paa sunde Slimhinder; den Overvægt, der findes for Antallet af positive Podninger fra syge Slimhinder, kan meget vel skyldes Tilfældigheder, bl. a. at Antallet af Podninger fra sunde Slimhinder var ret ringe (71), saa at man af Undersøgelsen maa slutte, at Bakterierne er Saprophyter, der forekommer overordentlig hyppigt i Menneskets øvre Luftveje.

Imidlertid foretog jeg med Stammer fra mit Materiale nogle enkelte Forsøg, dels med intravenøs Injektion af Kultur paa hvide Mus, subcutan Injektion paa Marsvin og intracutan Injektion paa Kaniner.

Der har kun været udført en lille Række Undersøgelser, først og fremmest fordi alt tydede paa Bakteriernes saprophytiske Natur, dernæst paa Grund af de negative Resultater, jeg fik ved de fleste Undersøgelser, og endelig paa Grund af den tvivlsomme Værdi, der ligger i saadanne Dyreforsøg.

Til Musforsøgene anvendtes en Standard 8 Opslemning af følgende Stammer: 5, 10, 15, 31, 50, 75. Der injiceredes intravenøst paa 15 Mus 0,1 cm³ af Opslemningen hver 3die Dag, ialt 3 Injektioner. Alle Mus befandt sig udmærket, een fik dog en lille Absces paa det første Injektionssted (St. 50). 4 Dage efter sidste Injektion blev Musene chloroformerede, og der foretoges Sektion med Udsæd paa Blodplade fra Milt, Lever, Inguinal-, Axil-, Mesenterial- og Halsglandler. I 10 Tilfælde fandtes fuldstændige normale Forhold, i 2 Tilfælde var Milten meget forstørret og i 3 Tilfælde Halsglandlerne; ved Podningen fandtes i intet Tilfælde Actinomyceter, i eet Tilfælde proteus og i to andre Kokker.

Dernæst forsøgte med større intravenøs Dosis, nemlig følgende: I Injektion: 0,3 cm³, II: 0,5 cm³, III: 1,00 cm³. Forsøget omfattede 5 Mus, een enkelt fik en lille Knude paa det første Injektionssted (Stamme 15), iøvrigt befandt de sig alle godt,

og den bakteriologiske Sektion viste ganske normale Forhold.

Marsvineforsøgene omfattede 5 Dyr, der fik en subcutan Injektion af 1 cm³ af en Standard 8 Opslemning af følgende Stammer: 66, 106, 138, 157, 160. Det ene Marsvin blev slået efter 4 Dage og døde efter 8 Dage; der kunde ved Sektion intet abnormt paavises. De øvrige 4 levede 1½ Aar og befandt sig vel; paa et Par af dem optraadte Smaaknuder paa Injektionsstedet, men de svandt hurtigt. Efter det halve Aars Forløb dræbtes de, og der gjordes Sektion med bakteriologisk Undersøgelse af Milt, Lever, Hjerte, Glandler, Lunger. Der paavistes intet abnormt, specielt ingen Actinomyceer.

Endelig foretoges Injektion af 38 Stammer intracutant paa epileret Kanin. Der injiceredes 0.1 cm³ af en frisk tilberedt Standard 8 Opslemning fra Kultur dyrket 2 Døgn ved 37° paa Kartoffelbouillonagar. — Den følgende Dag var der paa alle Injektionsstederne fra ært- til kirsebærstore Infiltrationer, nogle af disse svandt snart spontant, andre viste purulent Henfald, der podedes fra Abscesserne, dels efter 4 Dages Forløb, dels efter at Kaninen var slået 8 Dage efter Injektionerne; det lykkedes fra en Række af Abscesserne at faa Vækst af den paa-gældende Actinomyceet i Renkultur, nemlig fra 66, 106, 132, 138, 157 og 160. De 5 af disse fra Abscesserne vundne Stammer 66, 106, 138, 157 og 160 voksede 2 Døgn paa Kartoffelbouillonagar, og der tilberedtes atter en Standard 8 Opslemning, hvoraf 0.1 cm³ injiceredes intracutant paa epileret Kanin. Der dannedes igen Abscesser paa alle Injektionsstederne; det purulente Henfald indtraf noget tidligere end i første Forsøg, men Abscesserne var — paa en enkelt Undtagelse nær (ST. 66) — noget mindre.

Et negativt Udfald viste nogle samtidig foretagne Undersøgelser over Virkningen af Difteriantitoxin paa Stammernes Abscesdannelse. De foretoges ved samtidig intracutan Injektion af 0,1 cm³ af Kulturerne med 0,1 cm³ Difteriantitoxin (1 AE i 1 cm³). Abscesdannelsen var nejagtig den samme som paa Kontrolstederne uden Antitoxin. Der var til Kontrol af Antitoxinet injiceret 0,1 cm³ Difteribacilopslemning (Standard 8) med og uden Antitoxin, og her saas tydelig Virkning af Antitoxinet.

Ved Dyreforsøgene med Actinomycter af Gruppe II b (Ørskov) er det saaledes ikke lykkedes ved intravenøs Injektion at fremkalde Knudesygdom, som det efter Litteraturen skal være Tilfældet med en Række aërobe Actinomycter, derimod giver de ved subcutan og især ved intracutan Injektion næsten uden Undtagelse Abscesdannelse, fra hvilke Bakterierne atter kan vindes i Renkultur; disse Abscesser svinder ofte spontant efter kortere eller længere Tid, de kan ret hyppigt gaa over i purulent Henfald. Evnen til Abscesdannelse synes at være ens for Stammer fra alle fire Grupper.

RESUMÉ

Ved en Række Podninger fra rhinopharynx, som *Ørskov* foretog hos sunde Mennesker til Undersøgelse for Meningokokker, gjorde han den Iagttagelse, at der ret hyppig forekom en Microorganisme, der morphologisk tilhører Actinomyceterne af Gruppe II b i hans System over Straalesvampe.

Der er af tidligere Undersøgere isolerede nogle faa af disse Stammer, der dog ikke har været gjort til Genstand for en udtømmende Undersøgelse, men først *Ørskov* har paapeget, at det drejer sig om en hyppig forekommende Svælgbakterie.

I det foreliggende Arbejde er der foretaget Undersøgelser over 130 Stammer, isolerede fra Svælg og Næsesvælg; de fleste Stammer er Actinomyceter af Gruppe II b, men der er medtaget nogle Repræsentanter fra de morphologiske Nabogrupper, Actinomyceterne af Gruppe II a og de coryneforme Bakterier.

Udvælgelsen af Stammerne er udelukkende baseret paa Morphologien, og denne er undersøgt ved Agarmikroskopi a.m. *Ørskov*.

Ved Undersøgelsen har det vist sig, at disse Actinomyceter er endnu hyppigere forekommende Svælgbakterier end af *Ørskov* antaget. Procenttallet har ved de forskellige Undersøgelser varieret en Del, men er steget med forbedret Teknik og tiltagende Øvelse, og selv det højest fundne Procenttal 40,9 maa betragtes som Minimumtal.

Der er ved Podninger fra syge og sunde Slimhinder søgt oplyst, om Actinomyceterne kunde tænkes at spille en Rolle ved forskellige sygelige Tilstande, dette synes dog ikke at være Tilfældet.

Svampene har været gjort til Genstand for en systematisk bakteriologisk Undersøgelse.

Væksten foregaar langsomt og er i Reglen sparsom paa de almindelige Næringssubstrater; men ret rigelig paa Kartoffel-

bouillonagar, der er et udmærket egnet Substrat for disse Svampe.

Overfladekulturer viser sig i Reglen som knappenaalsspids-knappenaalshovedstore, perlemorsskinnende, hvælvede, halvfugtige Kolonier; i Bouillon vokser de med let Plumring, undertiden med Hindedannelse.

Som de fleste Straalesvampe er de grampositive og ikke syrefaste; de er ubevægelige og danner, paa en enkelt Undtagelse nær, ikke Kapsler. De danner ikke Indol, og vokser ligesaa godt under aerobe som anaerobe Betingelser; nogle faa er gelatinesmeltende, og nogle virker hæmolyserende.

Ved Dyreforsøg viser de kun ringe Pathogenitet, men kan dog fremkalde Abscesser.

Det angives hyppig i Litteraturen, ogsaa i de store Samlearbejder, at Actinomyceter mangler Forgæringsevne; men Størstedelen af Svampene i denne Gruppe har udmærket sig ved at forgære en meget stor Række Sukkerarter. Efter Forgæringen har det været muligt at dele dem i 4 Hovedgrupper. Den største af disse kaldes Syregruppen paa Grund af en ejendommelig spontan Syredannelse, som den — i Modsætning til de fleste Bakterier — fremkalder i sukkerfri Bouillon, og under hvilken Proces der forsvinder Mælkesyre fra Bouillon, medens Mængden af de andre ætheropløselige Syrer tiltager.

Der er foretaget Komplementbindingsundersøgelser, som omfatter 9 Sera prøvede overfor 104 Stammer; ved denne Undersøgelse viste der sig ogsaa en tydelig serologisk Adskillelse mellem de fire forgæringsmæssigt forskellige Grupper.

Det har vist sig, at der blandt Syregruppens Stammer findes nogle, der maa regnes til Mælkesyrebakterierne; da de ikke kan finde Optagelse i de bestaaende Grupper i *Orla-Jensen's* System, foreslaas de kaldt Lactomyceter.

De fleste af de undersøgte Stammer — særlig Syregruppens — er i Stand til ved Indvirkning paa Blodlegemer at fremkalde det af *O. Thomsen* beskrevne Hæmagglutinationsfænomen T-Agglutinationen.

Meget tyder paa, at Syregruppen er den mest konstant forekommende Svælgactinomycet, medens de andre er mere passagere Forekomster.

S U M M A R Y

The knowledge of the ramifying microorganisms is very small though a lot of papers have been written on the subject. Formerly it was assumed that they were only found very rarely and it was believed that their identity could be recognized by the ramification alone. The reports published deal only with a few strains and the observations are not exhaustive.

Recent observations, however, have shown that these bacteria are very often found and numerous types exist.

Ørskov in 1923 demonstrated that a special group of aerobic, ramifying microorganisms very often is found in the pharynx of human beings but no attention has been paid to this phenomenon by previous investigators and these actinomycetes are not mentioned in any papers on the normal microflora of the mouth. Only few observations have been published on microorganisms probably belonging to this group of bacteria isolated from the mouth or saliva.

It is reasonable to assume that the limited knowledge of the group is partly due to the great difficulties of isolating and culturing these microorganisms; the growth is bad and the microorganisms are but little resistant; partly it is due to the technique previously used, which often disturbed the morphological picture; in particular the ramifications of these bacteria were easily destroyed by the methods previously used. The morphological diagnosis only became reliable, when *Ørskov* invented his method of direct agarmicroscopy, which renders it possible to observe the total cycle of the life of the microorganisms.

It has been the object of the present work to examine in detail this group, not previously examined regarding its presence, biochemical characters and possible pathogenicity.

Observations have been made on 130 strains isolated from the pharynx and nasopharynx. The choice of strains has been based only upon morphological characters, examined by agar-microscopy after the Ørskov-method. Most of the strains are actinomycetes belonging to the group II b. (*Ørskov*).¹⁾

The morphological characteristics of the group are as follows:

The fungi either start producing a true mycelia or they grow with »angular branching«. They do not form any air-mycelium—this distinguishes them from the mycelium of group II a, which form air-mycelium, but otherwise show the same morphology.

In *Ørskov*'s system both these groups are included under the name of actinomycetes. Wolff-Israel's bacillus morphologically belongs to group II b. Between actinomycetes of group II b and the coryneiform bacteria the transition is gradual.

The examinations showed that aerobic actinomycetes belonging to group II b are still more frequent in the pharynx than assumed by *Ørskov*. The percentage has varied somewhat in different examinations but it has increased with the better technique and more practice, and the highest percentage found—40,9,—must be considered a minimum figure.

By inoculation from diseased and sound mucous membranes it has been examined whether the actinomycetes might play any part in different diseases, this, however, does not seem to be the case.

The mycelia have been bacteriologically, systematically examined.

The growth is slow and generally scarce on the ordinary media but may be ample on potato-bouillon agar which is an excellent medium for these mycelia.

Surface cultures generally show the aspect of mother of pearl coloured, dome-shaped, halfmoist colonies, the size of the point of a pin or the head of a pin.

In bouillon they show a slight opacity, sometimes forming

¹⁾ J. Ørskov: Investigations into the morphology of the ray fungi.

a pellicle. Like most actinomycetes they are Gram-positive and not acidoresistent, they are non-motile and with a single exception they do not show incapsulation. On the whole formation of capsules very seldom takes place in actinomycetes.

In the literature I have only found this published once, by Ørskov 1920.

This group does not form indole and grows equally well under anaerobic and aerobic conditions. Some few liquify gelatine and some are hemolytic.

In experiments on animals their pathogenicity was little; they could, however, produce abscesses.

It is often reported in the literature—also in the text books—that the actinomycetes do not ferment. But most of the mycelia in this group can ferment a long series of different carbohydrates. It has been possible according to their fermentation to divide them into 4 main groups.

The largest group is called the acid group on account of a remarkable, spontaneous formation of acid in sugarfree bouillon, contrary to most of the other bacteria; during this process lactic acid disappears from the bouillon, whilst the quantity of the other ether-soluble acids increases.

The other groups are called the alkali group and neutral group I and II. The first group produces alkali in sugarfree bouillon whilst the two other groups do not turn the reaction of the bouillon. All groups can be divided into smaller groups, but significant differences are only found in the alkali group.

It turned out that the nitrogen-containing medium plays a great rôle as to the power of fermentation of these bacteria. Series of fermentations on different nitrogen-containing media can therefore not be compared directly.

Complement-fixation tests have been carried out on 9 sera against 104 strains; this examination demonstrated a definite serological difference between the 4 groups, which showed variations in the fermentation.

It turned out that some of the strains of the acid group must be counted as belonging to the lactic acid bacteria. As they do not belong to the existing groups of *Orla Jensen's* system it is proposed to call them lactomycelia.

Most of the strains examined—especially those belonging to the acid group—are able by influencing the red blood-corpuscles to produce the so called Hemagglutination phenomenon: T—agglutination, described by *Oluf Thomsen*.

There is a great evidence, that the actinomycetes belonging to the acid group most often occur in the pharynx, whilst the other groups are comparatively rare.

LITTERATURFORTEGNELSE

- Abbott, A. C. and Gilderleeve*: On the actinomyceslike development of some of the acid resisting bacilli (streptothrices?). C. f. B. 31, 547, 1902.
- Andresen, P. H.*: Pludselige Forandringer af en Bakteries Gæringsevne. Hospitalstidende, S. 649, 1920.
- og *Schroeder, R.*: Comm. de l'Institut serother. Danois. 20, 41, 1930.
- : Undersøgelser over nogle Stoffers hæmmende Virkning paa Bakterievæksten. Disputats. København. 1929.
- Anitschkoff-Platonoff, E. J.*: Die Verunreinigung der Mundhöhle bei Kranken durch Mikroben. C. f. B. 33, 985, 1898.
- Almquist, Ernst*: Untersuchungen über einige Bakteriengattungen mit Mycelien. Z. f. Hyg. VIII, 189, 1890.
- Amsel, Rose*: Sur le phénomène de l'agglutinabilité transmissible. C.r. Soc. biol., II, 1164, 1928.
- Baerthlein, K.*: Ueber Blutveränderungen durch Bakterien. C. f. B. I Org. 74, 201, 1914.
- Bagger*: Undersøgelser over Enterococcer. Disp. København. 1925.
- Bary, A. de*: Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig 1884.
- Baron, M. und Patay R.*: Une streptothricée pathogène isolée chez l'homme dans les pus d'abcès multiples et chroniques. C.r. Soc. biol. 100, 695, 1929.
- Bayne-Jones, Stanhope*: Club-formation by actinomyces hominis in glucosebroth with a note on bac. actinomycetum-comitans. Journ. o. Bact. X, 569, 1925.
- Berestnew*: Ref. Lubarsch-Ostertag Ergebnisse V, 666.
- : Ueber Pseudoactinomybose. Z. f. Hyg. 29, 94, 1898.
- : Ueber die Lebensfähigkeit der Sporen von Strahlenpilzen. C. f. B. 40, 298, 1907.
- Bergey, D. H.*: Aktinomyces der Mundhöhle. C. f. B. I Ref. 40, 361, 1907.
- Bergey, David*: Manual of determinative Bacteriology. London. 1934.
- Beijerinck, M.*: Verfahren zum Nachweise der Säureabsonderung bei Mikroben. C. f. B. 9, 781, 1891.
- Biagi, N.*: Contributa della conoscenza del genere Actinomyces (Lo Sperimentale, fasc. 4, 1904) Ref. C. f. B. I. Ref. 37, 414, 1906.

- Birt, C. and Leishmann, W. B.*: A new acidfast streptothrix, pathogenic to man and animals. Journ. o. Hyg., 2, 120, 1902.
- Blake, Francis*: The etiology of rat-bite-fever. Journ. o. exp. Med., 23, 39, 1916.
- Bogendörfer, L. und Halle*: Ueber reversible Hämolyse. Klin. Wochenschr., 46, 2102, 1924.
- Brailowsky-Lounkevitch, Z. A.*: Contribution à l'étude de la flore microbienne habituelle de la bouche normale. Ann. de l'Inst. Pasteur, 29, 379, 1915.
- Bruns, Hayo*: Ein Beitrag zur Pleomorphie der Tuberkelbacillen. C. f. B., 17, 817, 1895.
- : Zur Morphologie des actinomyces. C. f. B., 26, 11, 1899.
- Brusoff, A.*: Ein Beitrag zur Kenntniss der Actinomyceten. C. f. B. II, 49, 98, 1919.
- Buchanan, R. E.*: Studies in the classification and nomenclature of the bacteria (actinomycetales). Journ. o. Bact., III, 403, 1918.
- Buchholtz, Hermann*: Ueber menschenpathogene streptothrix. Z. f. H., 24, 470, 1897.
- Bujwid, O.*: Ueber die Reinkultur der actinomyces. C. f. B., 6, 630, 1889.
- Burri*: Das Tuscheverfahren, Jena 1909.
- Calmette, Nègre et Boquet*: Manuel technique de microbiologie. Paris 1926.
- Caminiti, R.*: Ueber eine neue streptothrixspecies und die Streptothricen im Allgemeinen. C. f. B., I, 44, 193, 1907 og 65, 423, 1912.
- Castellani, A.*: Die Agglutination bei gemischter Infection und die Diagnose der letzteren. Z. f. H., 40, 1, 1902.
- Chatterjee, G. C.*: A new lactic acid producing streptothrix found in the fermented milk of India called the Dadhi. C. f. B., I Org., 53, 103, 1910.
- Chiarolanza, R.*: Experimenteller Beitrag zur Biologie einer Streptothrix- und Actinomycesart. C. f. B., I Org., 53, 1, 1910.
- Christiansen, M.*: Mutationsagtige Ændringer i Gæringseveen hos Paracoli og Kødforfigningsbakt. Det kgl. Vidensk. Selsk. Forh. No. 1, 1912.
- Claypole, Edith*: On the classification of the streptothrices particularly in their relation to bacteria. Journ. o. exp. Med., 17, 99, 1913.
- : Human streptotricosis and its differentiation from tuberculous. Arch. of int. med., 14, 104, 1914.
- Cohn, Theodor*: Ein actinomycet der männlichen Urogenitalorgane, C. f. B., I Org., 70, 290, 1913.
- Colebrook, L.*: The mycelial and other microorganisms associated with human actinomycosis. The Brit. Journ. o. exp. Path., I, 197, 1920.
- Coppen, Jones A.*: Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkelpilzes und über die Kolbenbildung bei Aktinomykose und Tuberkulose. C. f. B., 17, 1 & 70, 1895.

- Dam, W. van:* Einfluss der Milchsäure auf die Milchsäuregärung. Biochem. Zeitschr., 87, 107, 1918.
- Davis, John David:* The actinomyceslike granules in tonsils. Journ. o. inf. diseases., 14, 144, 1914.
- : An acidfast streptothrix (nocardia). Arch. of int. med. 14, 1, 1914.
- Delbanco, E.:* Eine neue Strahlenpilzart nebst Bemerkungen über Verfettung und hyaline Degeneration. C. f. B. Ref., 31, 1096, 1898.
- Dügge, Max:* Bakteriologische Untersuchungen über das armenische Mazun. C. f. B., 15, 577, 1906.
- Eijkmann, C.:* Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilze. C. f. B., 29, 841, 1901.
- Eisenberg, Ph. u. Volk, R.:* Untersuchungen über die Agglutination. Z. f. H., 40, 155, 1902.
- Eppinger:* Ref. Lubarsch-Ostertag Ergebnisse, S. 554, 1896.
- Fennel, E. A.:* Streptothrix interproximalis n. sp. an obligate microaerophile from the human mouth. Journ. o. inf. diseases., 22, 567, 1918.
- Feistmantel, Carl:* Säure- und Alkoholfestigkeit der streptothrix farcinica und die Beziehungen der streptothricheen zu der säurefesten Pilzen. C. f. B., 31, 433, 1902.
- Fermi, Claudio:* Beitrag zum Studium der von den Microorganismen abgesonderten diastatischen und Inversionsfermente. C. f. B., 12, 713, 1892.
- Flemer, S.:* Pseudotuberculosis hominis streptothricha. Journ. of exp. Med., III, 435, 1898.
- Foulerton, A.:* The Milroy lectures on the streptothrichosis and tuberculosis. The Lancet, I, S. 551 — 626 — 769, 1910.
- Fred, Peterson and Anderson:* The characteristics of certain pentose-destroying bacteria, especially as concerns their action of arabinose and xylose. The Journ. of biol. chem., 48, 385, 1921.
- Friedenreich:* The Thomsen Hemagglutination phenomenon. Disp. 1930.
- Fritsche:* Experimentelle Untersuchungen über biologische Beziehungen des Tuberkelbazillus zu einigen anderen säurefesten Microorganismen und actinomyceten. Arch. f. Hyg., 65, 181, 1908.
- Fuchs, Ernst:* Ueber Färbbarkeit der Streptothricheen nach Methoden der Tuberkelbacillenfärbung. C. f. B., 33, 649, 1903.
- Galli-Valerio, B.:* Etudes sur les actinomycetes. C. f. B., 63, 555, 1912.
- : Parasitologische Untersuchungen. C. f. B. I Orig., 76, 511, 1915.
- Gasparini, G.:* Versuche über das genus »actinomyces«. C. f. B., 15, 684, 1894.
- Gilbert:* Ueber Actinomyces thermophilus und andere Actinomyceten. Z. f. Hyg. 47, 383, 1904.
- Gjorgjevic, Georg:* Beitrag zur Kenntniss der streptothrixerkrankungen des Menschen, W. kl. W., 198, 1911.
- Harbitz og Gröndahl:* Aktinomykosen i Norge. Christiania 1910.

- Heinemann, P. G. and Hefferson, M.*: A study of bacil bulgaric. Journ. o. inf. diseas. 6, 304, 1909.
- Henneberg, W.*: Zur Kenntniss der Milchsäurebakterien der Brenneremaische der Milch, des Bieres, der Presshefe, der Melasse, des Sauerkohles, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. C. f. B. II, 11, 154, 1903—04.
- Henrici, A. T. and Gardener, E. L.*: The acidfast actinomycetes. Journ. o. inf. diseas. 28, 232, 1921.
- Henrici, A. T.*: Molds, yeasts and actinomycetes. New York. 1930.
- Holm, Per*: Comparative studies on some pathogenic actinomycetes. Acta Path. et Microb. Scand. Suppl. III.
- Jacobson, G.*: Contribution à l'étude de la flore normale des selles du nourrisson. Ann. de l'Inst. Pasteur, 300, 1908.
- Jensen, H. L.*: Actinomyces acidophilus n. sp. A group of acidophilus actinomycetes, isolated from the soil. Soil science, XXV, No. 3, 1928.
- : Actinomycetes in danish soils. Soil science, XXX, No. 1, 1930.
- : Contribution to our knowledge of the actinomycetales II. From the proceedings of the Linnean society of New South Wales, 56, part 4, 1932 og III, 57, parts 5—6, 1932.
- : Corynebacteria as an important group of soil microorganism. From the proceedings of the Linnean society of New South Wales, 58, parts 3—4, 1933.
- Jessen, J.*: Studier over gramnegative Kokker. Disputats. 1933.
- Joos*: Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. Z. f. Hyg. 36, 422, 1901 & 40, 203, 1902.
- Iwanoff, K. S.*: Ueber die Wirkung einiger Metallsalze und einatomiger Alkohole auf der Entwicklung von Schimmelpilzen. C. f. B., II, 13, 139, 1904.
- Iwanoff, L.*: Ueber die fermentartige Zersetzung der Thymonucleinsäure durch Schimmelpilze. Z. f. phys. Chemie 1903. Ref. C. f. B., 34, 373, 1904.
- Karwacki, Leon*: Influence du temps sur la vitalité des cultures des bacilles acidorésistants. C.r. Soc. biol., II, 1150 — 1152 — 1171 — 1173, 1928.
- Klein, E.*: Ein weiterer Beitrag zur Aethiologie der Diphterie. C. f. B., I Org., VII, 785, 1890.
- : Zur Kenntniss der Verbreitung des bacillus tuberculosus und pseudotuberculosis in der Milch, sowie die Biologie des bacillus tuberculosis. C. f. B., 28, 111, 1900.
- Klinger, R.*: Untersuchungen über menschliche Actinomycose. C. f. B. I, 62, 191, 1912.
- Knorr, M.*: Zur differentialdiagnostischen Bedeutung und Technik der Katalasereaktion. C. f. B. I Org., 103, 147, 1927.

- Kovács, N.*: Zur Differenzierung der Enterokokken. Zschr. f. Immun. Forsch., 49, 450, 1927.
- Krafft, F.*: Organische Chemie. Leipzig u. Wien, 1905, S. 723.
- Krainsky, A.*: Zur Frage der Zellulosezersetzung durch Microorganismen. C. f. B., 11, 1914.
- Kraus u. Uhlenhuth*: Handbuch der Microbiol. Technik. Berlin Wien. Bd. I, 343, 1924.
- Krause, P.*: Beitrag zur Kenntniss des Actinomyces. C. f. B., 26, 209, 1899.
- Kristensen, M.*: Untersuchungen über die Rolle des Bangschen Abortbazillus als menschenpathogenen Mikroben. C. f. B. I Org., 8, 89, 1928.
- : Die Komplementbindungsreaktion bei Gonorrhoe (Technik). Acta Path. et Microbiol. Scand. Vol. VII, fasc. I—II, 1930.
- Kruse*: Systematik der Streptothricen i Flügges: Die Microorganismen. Leipzig 1896.
- Kulikowska, H.*: Ein Pilz der Gruppe Trichomycetes in einem Falle von Lungenmykose. C. f. B. I Org., 117, 90, 1930.
- Kunstze, W.*: Studien über fermentierte Milch. C. f. B. II, 21, 737, 1908.
- Küster, E.*: Die Flora der normalen Mundhöhle. Kolle u. Wassermann: Handbuch der pathogenen Microorganismen. IV, 435, 1913.
- Lachner-Sandoval, V.*: Ueber Strahlenpilze. Strassburg 1898.
- Lantzsch, Kurt*: Actinomyces oligocarbophilus, sein Formwechsel und seine Physiologie. C. f. B. II, 57, 309, 1922.
- Lery, E.*: Ueber die Actinomycesgruppe (Actinomyceten und die ihr verwandten Bakterien). C. f. B. 26, 1, 1899.
- : Die Wachstums- und Dauerformen der Strahlenpilze und ihre Beziehungen zu den Bakterien. C. f. B. I, 33, 18, 1903.
- Leyton, A. and Leyton, H.*: On some streptothrixes isolated from tumours. Journ. o. Path. & Bact., 21, 47, 1916.
- Lieske, R.*: Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Leipzig 1921.
- : Allgemeines über Actinomyceten. Kolle, Kraus, Uhlenhuth: Handbuch der path. Microorg. 5, 17, 1928.
- Lignières et Spitz*: Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affections connues sous le nom d'actinomycose. C. f. B., 35, 294 og 452, 1904.
- Loghem, I. I. van*: Unterschied zwischen Hämolyse und Hæmodigestion auf der Blutagarplatte. C. f. B. I, 70, 70, 1913.
- Lombardo-Pellegrino, B.*: Di uno streptothrix isolata del sottosuole (Riforma med. 1903, No. 39) Ref. C. f. B. I Ref. 35, 761, 1904.
- Lüerssen, A. u. Kühn, M.*: Yoghurt, die bulgarische Sauermilch. C. f. B. II, 20, 234, 1908.
- Löwenstein, A.*: Zur Actinomycose der Hornhaut. Klin. Monatschr. d. Augenheilk. 52, 859, 1914. Ref. C. f. B., 65, 245, 1917.

- Mac-Callum, W. G.*: On the life history of actinomyces asteroides. C. f. B. 31., 529, 1902.
- Mac-Fadyean, F.*: The morphology of the actinomyces. Brit. med. Journ., p. 1339—44. 1889. Ref. C. f. B., 6, 576, 1889.
- Madsen, Th.*: Experimentelle Undersøgelser over Difterigiften. Disp. København. 1896.
- Magnus, Rigmor von*: Untersuchungen über einen unter gewissen Wachstumsbedingungen kapsulaten Aktinomyces. C. f. B. I Org. 120, 113, 1931.
- Magnusson, Hilding*: The commonest forms of actinomyces in domestic animals and their etiology. Acta Path. et Microbiol. Scand. Vol. V, fasc. 2—3, 1928.
- Mertens, Victor*: Beitrag zur Aktinomykoseforschung. Z. f. Hyg., 42, 45, 1903.
- Mironescu, Th.*: Ueber das Vorkommen von tuberkelbacillenähnlichen Bakterien in menschlichen faeces. Z. f. Hyg., 37, 497, 1901.
- Moeller*: Ein neuer säure- und alkoholfester Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe welcher echte Verzweigungsformen bildet. C. f. B. Bd. 25, No. 11, 370, 1899.
- Moro, Ernst*: Ueber die nach Gram färbbaren Bacillen des Säuglingsstuhles. W. kl. W. 13, 114, 1900.
- Münter, F.*: Ueber Actinomyceten des Bodens. C. f. B. II, 36, 365, 1913.
- : Ueber den Einfluss anorganischer Salze auf das Wachstum der Actinomyceten. C. f. B. II, 44, 673, 1916.
- Nakayama*: Impfversuche mit actinomyces asteroides Eppinger am Meerschweinchen. Arch. f. Hyg. 58, 207, 1906.
- Naujoks, H.*: Das Vorkommen des bacillus acidophilus bei Schwangeren und Gebärenden und sein zeitlicher und örtlicher Uebergang auf den Neugeborenen C. f. B. I Org., 86, 582, 1921.
- Neisser, Hedwig*: Ueber Fadendiphtheriebazillen. C. f. B. I Org., 124, 503, 1932.
- Nepomnjaschy, M.*: Ueber Actinomycetenzyklogenie. C. f. B., I Org. 117, 99, 1930.
- Neufeld*: Ueber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorien der Agglutination. Z. f. Hyg., 40, 54, 1902.
- Neukirch, H.*: Zur Actinomycetenfrage. Z. f. Hyg., 48, 463, 1904.
- Nocard, M. E.*: Note sur la maladie des boeufs de la Guadeloupe connues sous le nom de farcin. Ann. d. l'Inst. Pasteur, S. 293, 1888.
- Näslund, C. und Dornby, K. G.*: Untersuchungen über einige physiologische Eigenschaften der Strahlenpilze. Biochem. Zschr., 138, 497, 1923.
- Näslund, C.*: Studies of actinomyces from the oral cavity. Acta Path. et Microbiol. Scand. Vol. 2, fasc. 2, 110, 1925.
- : Studien über Speichelsteinbildung. Acta Path. et Microbiol. Scand. Vol. 2, fasc. 2, 244, 1925.

- Näslund, C.*: Studies of tartar formation. *ibid.* Vol. 3, fasc. 3, 667.
- : Experimentelle Uebertragung der Aktinomykose von Menschen auf Versuchstiere mittels Reinkulturen der *Actinomyces*form Wolff-Israel (act. Israël) *ibid.* Vol. 6, 66, 1929.
- : Fortgesetzte Untersuchungen über die Speichelsteinbildung unter besonderer Berücksichtigung ihres Verhältnisses zur Entstehung primärer Speicheldrüsenaktinomykose. *ibid.*, Vol. 6, 78, 1929.
- : Experimentelle Studien über die Aethiologie und Pathogenese der Aktinomykose. *ibid.* Suppl. 1931.
- Oppler, Bruno*: Zur Kenntniss des Mageninhaltes beim carcinoma ventriculi. *D. m. W.* 21, 73, 1895.
- Orla-Jensen*: The lactic acid bacteria. Kgl. Vidensk. Selsk. Skrifter 1919 naturv.-mat. Afd. 8 Række V. 2.
- : Die Abhängigkeit der Milchsäuregärung von der Art und Weise, in welcher die Sterilisierung der Nährböden ausgeführt wird. IX Congrès internat. de laiterie Copenhagen 1931. *Compt. rend.*
- Orla-Jensen og Winther*: Forsøg paa Omstemning af Tarmfloraen hos Rotter og Mennesker. *Mælkeritidende* No. 19, 1934.
- Peterson, E. B., Peterson, W. H. and Stiles, H. R.*: The biochemistry of the granulated lactic acid bacteria from cereals. *Journ. o. Bact.* X, 63, 1925.
- Petruschky*: Die pathogenen Trichomyceten. *Kolle u. Wassermann: Handb. d. path. Microorg.*, Bd. II, 832, 1903.
- Pinoy, E.*: Actinomycoses et Mycetomes. *Bull. d. l'Inst. Pasteur*, XI, 929, 1913.
- Poenaru, I. D.*: Présence du streptothrix nocardia dans certains abcès et ulcères sous-cutanés chez le chat. *C.r. Soc. biol.*, 91, 749, 1924.
- Quinsel, Ulrik*: Untersuchungen über das Vorkommen von Bakterien in den Lungen und bronchialen Lymphdrüsen gesunder Thiere. *Z. f. Hyg.*, 40, 505, 1902.
- Rievel*: Die freie Form des Actinomyces. *D. tierärztl. Wschr.*, 24, 347, 1909. *Ref. C. f. B.* I, 45, 591.
- Rodella, A.*: Ueber die sogenannten säureliebenden Bacillen im Säuglingstuhl. *C. f. B. I.*, 29, 717, 1901.
- : Einiges zur Technik der bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle. *C. f. B. I Org.*, 37, 314, 1904.
- : Ueber anaerobe Mundbakterien und ihre Bedeutung. *Arch. f. Hyg.* 53, 329, 1905.
- Rullmann, W.*: Ueber eine aus sputum isolierte pathogene streptothrix. *M. m. W.* 2, 919, 1898.
- Sachs, H. und Klopstock, A.*: Methoden der Hämolyseforschung. *Wien Berlin* 1928.
- Sames, Theodor*: Zur Kenntniss der bei höheren Temperaturen wachsenden Bakterien- und Streptothrixarten. *Z. f. Hyg.* 33, 313, 1900.

- Sanfelice, F.*: Ueber die pathogene Wirkung einiger Streptothrix (actinomyces) arten. C. f. B. I 36, 355, 1904.
- : Ueber einige pathogene Variationen der streptothrix carnea. C. f. B. I Org. 130, 228, 1933.
- Sauvageau et Radais*: Sur les genres cladothrix, streptothrix, actinomyces, et description de deux streptothrix nouveaux. Ann. de l'Inst. Pasteur. S. 252, 1892.
- Sartory, A., Meyer, M. et Meyer, I.*: Contribution à l'étude des mycoses osseuses; trois cas d'ostéites dues d'une part à l'actinomyces asteroides (Eppinger) et d'autre part à l'hemispora stellata (Vuillemin). Ann. de l'Inst. Pasteur, 44, 298, 1930.
- Schlegel*: Aktinomykose bei Mensch und Tieren. Lubarsch-Ostertag Ergeb. V, 401, 1898.
- Schlegel, M.*: Aktinomykose. Kolle u. Wassermann: Handb. d. path. Microorg. II, 861, 1903.
- Schlürf, Karl*: Zur Kenntniss der »azidophilen« Bakterien. C. f. B. I Org. 97, 104, 1926.
- Schottmüller, H.*: Die Artunterscheidung der für die Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. M. m. W., 20, 849, 1903.
- Schukevitsch, J.*: Untersuchungen über Agglutination von Strahlenpilzen und über Tierimmunisation gegen Actinomycesinfektion. C. f. B. I Ref., 45, 605, 1910.
- Schulze, Otto*: Untersuchungen über die Strahlenpilzformen des Tuberculoseerregers. Z. f. Hyg. 31, 153, 1899.
- Schürmann, W.*: Untersuchungen über 5 Streptothrixstämme. C. f. B. I Org. 49, 179, 1911.
- Schütt*: Die freie Form des Actinomyces. Berlin. tierärztl. Wochenschr. Ref. C. f. B. Ref. I. 45, 591, 1910.
- Silberschmidt*: Sur un nouveau streptothrix pathogène (Streptothrix caprae) Ann. de l'Inst. Pasteur, 11, 841, 1899.
- : Ueber Actinomykose. Z. f. Hyg. 37, 345, 1901.
- Smith, Th.*: The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gasproduction among bacteria. C. f. B. 14, 864, 1893.
- Starlinger, W. und Strasser, N.*: Ueber die sogenannte Reversion der Hä-molyse. Zschr. f. d. ges. exper. M. 47, 406 og 420, 1925.
- Stolz, Albert*: Ueber einen Bacillus mit Verzweigungen. Arch. f. Hyg. 33, 156, 1897.
- Stutzer, M. J. und Abramovitsch*: Zur Biologie der Actinomyceten. C. f. B. I Ref. 87, 47, 1927.
- Sønke Knudsen og Sørensen, A.*: Bidrag til Syrevækkernes Bakteriologi. Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole Aarsskr. 1929.
- —: Syrevækkere. Dansk Mejeristat. 1931.
- Terni, C.*: Eine neue Art von Actinomyces (actinomyces Gruberi) C. f. B., 16, 362, 1894.

- Tissier, H. et Gasching, P.*: Recherches sur la fermentation du lait. Ann. d. l'Inst. Pasteur, S. 540, 1903.
- Thjötta, T. and Gundersen, E.*: A streptothrix isolated from the blood in a case of acute rheumatism, with remarks upon the classification of ray fungi. Journ. o. Bact., X, 1, 1925.
- Thompson, E. T.*: Note on an anaerobic streptothrix occurring in sputa in pulmonary diseases. The Lancet, II, 1036, 1929.
- Topley, W. and Wilson, G.*: The principles of bacteriology and immunity. London 1929.
- Tunncliffe, Ruth*: Streptothrices in bronchopneumonia of rats similar to that in rat-bite-fever. Journ. o. inf. diseases., 19, 767, 1916.
- and *Mayer, K.*: A case of rat-bite-fever. *ibid.*, 23, 555, 1918.
- Vierling, Karl*: Morphologische und physiologische Untersuchungen über bodenbewohnenden Mycobakterien. C. f. B. II, 52, 196, 1920.
- Waksman, Selman, A.*: Studies in the metabolism of pathogenic actinomyces (streptothrices). Journ. o. inf. diseases. 23, 47, 1918.
- : Studies in the metabolism of actinomycetes. Journ. o. Bact. 4, 189, 1919 og 5, 1 og 31, 1920.
- White, B. and Avery, O.*: Observations on certain lactic acid bacteria of the so-called bulgaricus-type. C. f. B. II. 25, 161, 1910.
- Widal, Abrami, Joltrain, Brissaud et Weil*: Serodiagnostics mycosique. Ann. d. l'Inst. Pasteur. 24, 1, 1910.
- Wright, J. H.*: The biology of the microorganism of actinomycosis. Publ. of the Massachusetts general Hospital. Boston Maj 1905, Vol. I, No. 1.
- Zilz, J.*: Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Kieferaktinomykose. C. f. B. I Ref. 64, 168, 1916.
- Zipfel, Hugo*: Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen. C. f. B. II 32, 97, 1912.
- Ørskov, J.*: En Iagttagelse angaaende Slægtskabet mellem Streptothricerne og Bakterierne. Hospitalstidende, S. 753, 1920.
- : Metode til Rendyrkning af Bakterier fra een Celle, samt Fremgangsmaade til direkte Forfølgelse af Bakterievækst paa fast Substrat. *ibid.* S. 86, 1922.
- : Investigations into the morphology of the ray fungi. Disputats, København. 1923.
- : Undersøgelser over Straalesvampe isolerede fra danske Jordprøver. 1934.

